

SKRIPSI

PENGARUH KONSENTRASI ETANOL DAN WAKTU MASERASI TERHADAP PEROLEHAN FENOLIK, FLAVONOID, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RAMBUT JAGUNG



Diajukan Oleh :

Vincentia Kristiani NRP : 5203011018

Filia Irawati Halim NRP : 5203011029

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA
SURABAYA
2014**

LEMBAR PENGESAHAN

Seminar SKRIPSI bagi mahasiswa tersebut dibawah ini.

Nama : Vincentia Kristiani

NRP : 5203011018


Telah diselenggarakan pada tanggal 3 Juni 2014, karenanya yang bersangkutan dapat dinyatakan telah memenuhi sebagian persyaratan kurikulum guna memperoleh gelar Sarjana Teknik jurusan Teknik Kimia.

Surabaya, 13 Juni 2014

Pembimbing I

Pembimbing II


Wenny Irawaty, Ph.D.
NIK. 521.97.0284



Ir. Nani Indraswati
NIK. 521.86.0121

Dewan Penguji

Ketua

Secretaris


Angresty, ST., M. Eng Sc
NIK. 521.99.0396


Wenny Irawaty, Ph.D.
NIK. 521.97.0284

Anggota

Anggota

Anggota


Ir. Yohanes S., M.T.
NIK. 521.89.0151


Dr. Ir. Suratno L., M.S.
NIK. 521.87.0127


Ir. Nani Indraswati
NIK. 521.86.0121

Mengetahui

Fakultas Teknik
Dekan

Jurusan Teknik Kimia
Ketua


Ir. Sarwadi Imanadji, MT., Ph.D.
NIK. 521.93.0198


Wenny Irawaty, Ph.D.
NIK. 521.97.0284

LEMBAR PENGESAHAN

Seminar SKRIPSI bagi mahasiswa tersebut dibawah ini:

Nama : Filia Irawati Halim

NRP : 5203011029

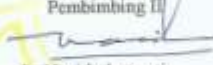
Telah diselenggarakan pada tanggal 3 Juni 2014, karenanya yang bersangkutan dapat dinyatakan telah memenuhi sebagian persyaratan kurikulum guna memperoleh gelar Sarjana Teknik jurusan Teknik Kimia.

Pembimbing I


Wenny Irawaty, Ph.D.
NIK. 521.97.0284

Surabaya, 13 Juni 2014

Pembimbing II


Ir. Nani Indraswati
NIK. 521.86.0121

Dewan Penguji

Ketua


Ariatisti, ST, M.Eng.Sc
NIK. 521.99.0396

Sekretaris


Wenny Irawaty, Ph.D.
NIK. 521.97.0284

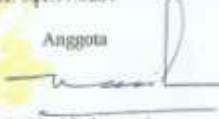
Anggota


Ir. Yohanes S. M.T.
NIK. 521.89.0151

Anggota


Dr. Ir. Suratno I., M.S.
NIK. 521.87.0127

Anggota


Ir. Nani Indraswati
NIK. 521.86.0121

Mengetahui

Fakultas Teknik
Dekan


Ir. Suwardi Ismadiji, MT, Ph.D
NIK. 521.93.0198

Jurusan Teknik Kimia

Ketua


Wenny Irawaty, Ph.D.
NIK. 521.97.0284

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demikian perkembangan ilmu pengetahuan, saya sebagai mahasiswa Unika
Widya Mandala Surabaya:

Nama : Vincentia Kristiani

NRP : 5203011018

Menyetujui skripsi/karya ilmiah saya:

Judul

**Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi terhadap Perolehan
Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung**

Untuk dipublikasikan/ditampilkan di internet atau media lain (Digital
Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya) untuk kepentingan
akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat
dengan sebenarnya

Surabaya, 13 Juni 2014

Yang menyatakan,



Vincentia Kristiani
5203011018

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demikian perkembangan ilmu pengetahuan, saya sebagai mahasiswa Unika
Widya Mandala Surabaya:

Nama : Filla Irawati Halim

NRP : 5203011029

Menyetujui skripsi/karya ilmiah saya:

Judul

**Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi terhadap Perolehan
Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung**

Untuk dipublikasikan/ditampilkan di internet atau media lain (Digital
Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya) untuk kepentingan
akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat
dengan sebenarnya

Surabaya, 13 Juni 2014

Yang menyatakan,



Filla Irawati Halim
5203011029

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain, baik sebagian maupun seluruhnya, kecuali dinyatakan dalam teks. Seandainya diketahui bahwa skripsi ini ternyata merupakan hasil karya orang lain, maka saya sadar dan menerima konsekuensi bahwa skripsi ini tidak dapat digunakan sebagai syarat untuk memperoleh gelar **Sarjana Teknik**.

Surabaya, 13 Juni 2014

Mahasiswa,



Vincentia Kristiani
5203011018

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain, baik sebagian maupun seluruhnya, kecuali dinyatakan dalam teks. Seandainya diketahui bahwa skripsi ini ternyata merupakan hasil karya orang lain, maka saya sadar dan menerima konsekuensi bahwa skripsi ini tidak dapat digunakan sebagai syarat untuk memperoleh gelar **Sarjana Teknik**.

Surabaya, 13 Juni 2014

Mahasiswa,



Filia Irawati Halim
5203011029

| | |
|---|------|
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH | iv |
| LEMBAR PERNYATAAN | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL | xii |
| KATA PENGANTAR | xiv |
| INTISARI | xv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Tujuan | 2 |
| 1.3. Pembatasan Masalah | 2 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 3 |
| 2.1 Senyawa Radikal Penyebab Kerusakan Jaringan | 3 |
| 2.2 Antioksidan sebagai Penangkal Radikal Bebas | 4 |
| 2.3 Rambut Jagung sebagai Antioksidan Alami | 11 |
| 2.4 Ekstraksi | 14 |
| BAB 3 METODE PENELITIAN | 19 |
| 3.1 Bahan dan Alat | 19 |
| 3.2 Variabel | 20 |
| 3.2.1 Variabel Tetap | 20 |
| 3.2.2 Variabel Bebas | 21 |
| 3.3 Prosedur Penelitian | 21 |
| BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 23 |
| 4.1 Perolehan Fenolik | 23 |
| 4.2 Perolehan Flavonoid | 26 |
| 4.3 Aktivitas Antioksidan | 27 |
| BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN | 31 |
| 5.1 Kesimpulan | 31 |
| 5.2 Saran | 31 |
| DAFTAR PUSTAKA | 32 |
| LAMPIRAN A (PEMBUATAN LARUTAN) | 37 |
| A.1. Pembuatan Reagen Follin-ciocalteu 1:10 (v/v) sebanyak 55 mL | 37 |
| A.2. Pembuatan Larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 7,5 % (w/v) sebanyak 100 mL | 37 |
| A.3. Pembuatan Larutan Etanol 50 % sebanyak 500 mL | 37 |
| A.4. Pembuatan Larutan Etanol 70% sebanyak 500 mL | 37 |

| | | |
|---|--|----|
| A.5. | Pembuatan Larutan Induk Asam Galat 250 mg/L sebanyak 100 mL..... | 37 |
| A.6. | Pembuatan Larutan Aluminium Klorida (AlCl_3) 10% (w/v) sebanyak 100 mL..... | 38 |
| A.7. | Pembuatan Larutan Induk Rutin 500 mg/L sebanyak 100 mL | 38 |
| A.8. | Pembuatan Larutan Induk DPPH 25 mg/L sebanyak 100 mL | 38 |
| A.9. | Pembuatan Larutan Induk BHT 200 mg/L sebanyak 25 mL | 39 |
| LAMPIRAN B (<i>TOTAL PHENOLIC CONTENT</i> - TPC)..... | | 40 |
| B.1. | Pembuatan Kurva Standar Asam Galat..... | 40 |
| B.1.1 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 40 |
| B.1.2 | Pembuatan Kurva Standar | 45 |
| B.2. | Analisa TPC..... | 50 |
| B.2.1 | Prosedur Analisa TPC..... | 50 |
| B.2.2 | Perhitungan Analisa TPC..... | 51 |
| LAMPIRAN C (<i>TOTAL FLAVONOID CONTENT</i> - TFC)..... | | 57 |
| C.1. | Pembuatan Kurva Standar Rutin..... | 57 |
| C.1.1 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum | 57 |
| C.1.2 | Pembuatan Kurva Standar | 60 |
| C.2. | Analisa TFC..... | 65 |
| C.2.1 | Prosedur Analisa TFC..... | 65 |
| C.2.2 | Perhitungan Analisa TFC..... | 66 |
| LAMPIRAN D (ANALISA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN) | | 71 |
| D.1. | Ekstrak Cair | 71 |
| D.1.1 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH | 71 |
| D.1.2 | Prosedur Analisa Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH | 71 |
| D.1.3 | Perhitungan Radical Scavenging Activity | 72 |
| D.2. | Ekstrak Kering | 73 |
| D.2.1 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH | 73 |
| D.2.2 | Prosedur Analisa Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH | 74 |
| D.2.3 | Perhitungan Radical Scavenging Activity | 75 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|------------|---|----|
| Gambar 2.1 | Jenis-Jenis Flavonoid..... | 6 |
| Gambar 2.2 | Rambut Jagung..... | 11 |
| Gambar 2.3 | Quercetin (3,3o,4o,5,7-pentahydroxy flavone). | 13 |
| Gambar 2.4 | Rutin (5,7,3o,4o-OH, 3-rutinoses). | 14 |
| Gambar 4.1 | Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Perolehan Fenolik..... | 23 |
| Gambar 4.2 | Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Perolehan Flavonoid..... | 26 |
| Gambar 4.3 | % Inhibition Ekstrak Cair yang Memiliki Yield Fenolik dan Flavonoid Tertinggi..... | 28 |
| Gambar 4.4 | Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kering terhadap Persentase Inhibition..... | 29 |
| Gambar B.1 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Akuades..... | 41 |
| Gambar B.2 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Etanol 50%..... | 42 |
| Gambar B.3 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Etanol 70%..... | 43 |
| Gambar B.4 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Etanol 98%..... | 44 |
| Gambar B.5 | Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Akuades.. | 46 |
| Gambar B.6 | Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Etanol 50%..... | 47 |
| Gambar B.7 | Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Etanol 70%..... | 48 |
| Gambar B.8 | Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Etanol 98%..... | 49 |
| Gambar B.9 | Perubahan Warna pada Uji TPC dengan Menggunakan Pelarut Akuades..... | 55 |
| Gambar C.1 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Akuades..... | 57 |
| Gambar C.2 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Etanol 50% | 58 |

| | | |
|-------------|---|----|
| Gambar C.3 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Etanol 70% | 59 |
| Gambar C.4 | Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Etanol 98% | 59 |
| Gambar C.5 | Kurva Standar Rutin untuk Pelarut Akuades | 61 |
| Gambar C.6 | Kurva Standar Rutin untuk Pelarut Etanol 50 % | 62 |
| Gambar C.7 | Kurva Standar untuk Pelarut Etanol 70 % | 63 |
| Gambar C.8 | Kurva Standar untuk Pelarut Etanol 98 % | 64 |
| Gambar C.9 | Reaksi antara Flavonoid dengan $AlCl_3$ (Amic, 2003) | 69 |
| Gambar C.10 | Perubahan Warna pada Uji TFC dengan Menggunakan Pelarut Etanol 50% dan 70% | 70 |
| Gambar D.1 | Panjang Gelombang Maksimum DPPH Pelarut Etanol 70% | 71 |
| Gambar D.2 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH pelarut Metanol..... | 74 |
| Gambar D.3 | Perubahan Warna yang Terjadi pada Uji Aktivitas Antioksidan | 78 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|------------|--|----|
| Tabel 2.1 | Kemampuan Antioksidan dari Berbagai Bahan Alam .. | 8 |
| Tabel 2.2 | Tabulasi Penelitian terkait rambut jagung | 9 |
| Tabel B.1 | Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut akuades) pada berbagai Panjang Gelombang | 40 |
| Tabel B.2 | Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut etanol 50%) pada berbagai Panjang Gelombang | 42 |
| Tabel B.3 | Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut etanol 70%) pada berbagai Panjang Gelombang | 42 |
| Tabel B.4 | Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut etanol 98%) pada berbagai Panjang Gelombang | 43 |
| Tabel B.5 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut akuades) pada Berbagai Konsentrasi | 46 |
| Tabel B.6 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut etanol 50%) pada Berbagai Konsentrasi | 47 |
| Tabel B.7 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut etanol 70%) pada Berbagai Konsentrasi | 48 |
| Tabel B.8 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut etanol 98%) pada Berbagai Konsentrasi | 49 |
| Tabel B.9 | Persamaan dan <i>Square Root</i> dari Masing-Masing Pelarut | 50 |
| Tabel B.10 | Data Perhitungan TPC..... | 53 |
| Tabel C.1 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut akuades) pada Berbagai Konsentrasi..... | 60 |
| Tabel C.2 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut etanol 50%) pada Berbagai Konsentrasi..... | 62 |
| Tabel C.3 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut etanol 70%) pada Berbagai Konsentrasi..... | 63 |
| Tabel C.4 | Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut etanol 98%) pada Berbagai Konsentrasi..... | 64 |
| Tabel C.5 | Persamaan dan <i>Square Root</i> dari Masing-Masing Pelarut | 65 |
| Tabel C.6 | Data Perhitungan TFC..... | 67 |

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabel D.1 | Hasil Pengukuran Analisa DPPH menggunakan Spektrofotometer untuk Ekstrak Cair..... | 72 |
| Tabel D.2 | Hasil Perhitungan Radical Scavenging Activity | 73 |
| Tabel D.3 | Hasil Pengukuran Analisa DPPH..... | 75 |
| Tabel D.4 | Hasil Perhitungan Radical Scavenging Activity | 76 |

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi Terhadap Perolehan Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu prasyarat kelulusan dari strata satu (S1) di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Atas terselesainya laporan prarencana pabrik ini, penyusun menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Wenny Irawaty, Ph.D selaku dosen pembimbing I, sekaligus selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya;
2. Ir. Nani Indraswati selaku dosen pembimbing II;
3. Antaresti, S.T, M.Eng.Sc; Ir. Yohanes Sudaryanto, M.T.; dan Dr. Ir. Suratno L., M.S. selaku penguji skripsi;
4. Seluruh rekan yang telah membantu terselesaikannya laporan skripsi ini.

Penyusun menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna, karena itu penyusun mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari para pembaca demi kesempurnaan laporan skripsi ini. Akhir kata, penyusun berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca

Surabaya, 05 Juni 2014
Penyusun

INTISARI

Indonesia kaya akan flora yang dapat digunakan sebagai obat herbal. Salah satunya adalah rambut jagung yang kurang dimanfaatkan masyarakat dan biasanya menjadi limbah. Rambut jagung ini mengandung senyawa-senyawa antioksidan seperti fenolik, *tannins*, *quercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin*, *routine*, dan *luteolin*. Untuk mendapatkan kandungan tersebut, maka tujuan studi ini adalah menentukan konsentrasi etanol yang dapat mengekstrak *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) tertinggi, serta mempelajari aktivitas antioksidan dari ekstrak rambut jagung tersebut. Rambut jagung diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan waktu maserasi yaitu 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 jam. Hasil TPC tertinggi yang didapatkan sebesar 24,95 mg *galic acid equivalent* (GAE)/g rambut jagung kering menggunakan pelarut etanol 70% dengan waktu ekstraksi 5 jam, sedangkan TFC tertinggi yang didapatkan sebesar 17,12 mg *routine equivalent* (RE)/g rambut jagung kering menggunakan pelarut etanol 70% dengan waktu ekstraksi 6 jam. Ekstrak yang memiliki TPC dan TFC tertinggi diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Hasilnya menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi antioksidan, semakin besar pula aktivitas antioksidan tersebut dalam menetralkan radikal bebas DPPH.

ABSTRACT

Indonesian flora that are rich of antioxidant compounds can be used as a herbal medicine. For example is corn silk that has not been utilized yet. Corn silk contains tannins, quercetin, kaempferol, myricetin, apigenin, routine, and luteolin. This study aims to determine the ethanol concentration that provides the highest Total Phenolic Content (TPC) and Total Flavonoid Content (TFC), as well as studies the antioxidant activity of the corn silk extract. Corn silk extracted using maceration method with maceration time were 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9 hours. The results showed the highest TPC obtained was 24.95 mg galic acid equivalent (GAE)/g of dried corn silk using 70 % ethanol with 5 hours of extraction time, whereas the highest TFC obtained at 17.12 mg routines equivalent (RE)/g of dried corn silk using 70 % ethanol with 6 hours of extraction time. Extracts which had the highest TPC and TFC was tested its antioxidant activity using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that the greater concentration of antioxidants, the greater antioxidant activity in neutralizing free radicals, in this case DPPH.

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kesibukan akan pekerjaan seiring dengan kemajuan teknologi yang pesat membuat orang memiliki gaya hidup yang tidak sehat yang cenderung mengakibatkan timbulnya berbagai penyakit seperti diabetes melitus (DM), hipertensi, ginjal, jantung koroner dan lainnya. Penyakit-penyakit tersebut timbul akibat dari kerusakan jaringan karena adanya radikal bebas dalam tubuh yang terbentuk sebagai akibat pola hidup yang tidak sehat dimana senyawa radikal bebas bersifat menyerang sel-sel tubuh yang sehat [1]. Senyawa radikal bebas dapat diatasi dengan cara mengkonsumsi antioksidan. Antioksidan mampu untuk menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel tubuh.

Banyak bahan alami seperti sayur dan buah-buahan dilaporkan memiliki kandungan senyawa-senyawa antioksidan seperti fenolik dan flavonoid yang berguna untuk meregenerasi sel dan menangkal radikal bebas yang memang diperlukan untuk terapi penyakit DM [2]. Produk-produk limbah pertanian seperti kulit, biji, ataupun bagian lainnya yang biasanya dibuang dilaporkan juga mempunyai kandungan antioksidan yang cukup tinggi dibandingkan dengan bagian buah yang dapat dikonsumsi [3]. Rambut jagung dilaporkan mengandung senyawa-senyawa antioksidan seperti *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin* dan *luteolin*. *Quercetin* dan *rutin* merupakan antioksidan yang paling umum yang dapat menurunkan kadar gula dalam plasma darah sehingga dipercaya dapat meredakan DM [4]. Dengan demikian rambut jagung yang merupakan limbah produk pertanian tersebut sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai salah satu sumber antioksidan alami. Di samping itu, dengan

mempelajari tingkat aktivitas antioksidan dari rambut jagung ini, dapat dipelajari dan diketahui potensi dan jenis senyawa-senyawa antioksidan yang terdapat dalam rambut jagung yang memungkinkan penelitian lanjutan dan bahkan pengembangan teknologinya untuk aplikasinya di masa mendatang.

Untuk itu diperlukan kajian yang mendalam terhadap potensi rambut jagung sebagai salah satu sumber antioksidan alami dengan mempelajari pengaruh konsentrasi pelarut dan waktu maserasi terhadap perolehan fenolik total, flavonoid total dan hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak rambut jagung.

1.2. Tujuan

- Mempelajari pengaruh konsentrasi etanol sebagai pelarut dan waktu maserasi terhadap perolehan fenolik dan flavonoid dari ekstraksi rambut jagung lokal.
- Mempelajari aktivitas antioksidan ekstrak rambut jagung lokal.

1.3. Pembatasan Masalah

- Bahan baku yang digunakan adalah rambut jagung lokal yang diambil dari Pasar Keputran Surabaya.
- Pelarut yang digunakan adalah etanol dan air dengan perbandingan tertentu.
- Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.
- Aktivitas antioksidan dipelajari pada ekstrak dengan perolehan fenolik dan flavonoid terbesar

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Senyawa Radikal Penyebab Kerusakan Jaringan

Kemajuan teknologi yang serba canggih memberikan dampak yang buruk pada makhluk hidup dan lingkungan. Perubahan pola hidup manusia akibat kesibukan serta faktor radikal bebas yang berasal dari asap rokok, asap kendaraan, pengaruh obat-obatan dan sebagainya [5] mengakibatkan seseorang menderita penyakit serius pada masa tuanya. Berbagai penyakit serius seperti DM, hipertensi, ginjal, jantung koroner dan lainnya merupakan akibat dari kerusakan jaringan yang terbentuk karena radikal bebas. Radikal bebas adalah senyawa reaktif dimana atom atau gugusnya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan [6]. Radikal bebas ini bersifat merusak sehingga sangat membahayakan tubuh manusia karena menyerang sel-sel tubuh yang sehat dan menyebabkan kerusakan dalam struktur dan fungsi sel-sel tersebut [1]. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, dan produksi prostaglandin [7].

Pada proses metabolisme tubuh yang normal, ada pun hasil samping dari salah satu metabolisme tersebut juga dapat menghasilkan radikal bebas, dimana radikal bebas tersebut digunakan tubuh untuk fungsi fisiologis seperti kemampuan untuk membunuh virus dan bakteri. Akan tetapi jika jumlahnya terlalu banyak baik dari lingkungan masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh itu sendiri, maka radikal ini juga dapat merusak jaringan normal [7]. Terbentuknya senyawa oksigen reaktif sebagai radikal tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara pertahanan antioksidan dan peningkatan produksi radikal bebas [8]. Keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara oksidan (radikal bebas)

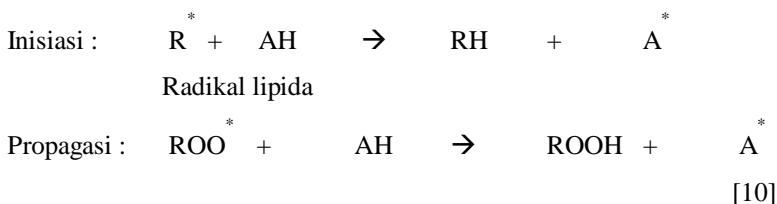
dan antioksidan dalam tubuh disebut stres oksidatif [8]. Stres oksidatif dapat diatasi dengan adanya antioksidan. Antioksidan mampu untuk menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh memiliki keterbatasan sehingga perlu disuplai antioksidan dari luar tubuh.

Beberapa peneliti mengungkapkan adanya penurunan vitamin E dan glutathione sebagai antioksidan pada penderita DM. Glutathione dalam bentuk tereduksi (GSH) yang terdapat plasma manusia, memiliki kemampuan sebagai antioksidan untuk pertahanan tubuh secara alami untuk menghambat radikal bebas. Perubahan jumlah GSH mempengaruhi respon sel beta terhadap glukosa dan perbaikan aksi insulin. Asupan antioksidan tersebut juga diperlukan penderita DM dalam jumlah besar karena peningkatan radikal bebas mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah atau disebut hiperglikemia [8].

2.2 Antioksidan sebagai Penangkal Radikal Bebas

Antioksidan adalah molekul yang cukup stabil yang mampu menetralkan radikal bebas [9]. Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki fungsi utama yaitu sebagai pemberi atom hidrogen sehingga sering disebut antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil [10], sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal dikarenakan adanya efek resonansi inti aromatik senyawa antioksidan [11]. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal ke bentuk lebih stabil [10].

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru [10]. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal [12].

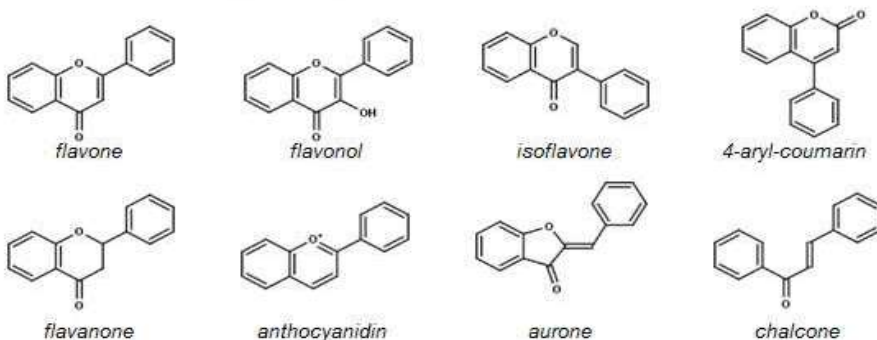


Antioksidan didalam sel dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan enzimatis dan nonenzimatis. Antioksidan enzimatis disebut juga antioksidan pencegah, yang terdiri dari *superoxide dismutase*, *catalase* dan *glutathione peroxidase*. Antioksidan non enzimatis disebut juga antioksidan pemecah rantai. Antioksidan pemecah rantai terdiri dari vitamin C, vitamin E dan beta karoten [13], serta golongan polifenol (fenolik) [14].

Senyawa fenolik terdiri atas molekul-molekul besar dengan beragam struktur dimana karakteristik utamanya berupa cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil. Kelompok utama polifenol (fenolik) meliputi flavonoid, asam fenolik, tanin (hidrolisis dan kondensasi), stilbena dan lignan [15]. Senyawa fenolik yang banyak ditemukan adalah golongan flavonoid [16].

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman. Senyawa tersebut dapat berperan sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan

[17], diyakini bahwa flavonoid memiliki sifat antioksidatif serta mampu mencegah kerusakan sel dan komponen selularnya oleh radikal bebas reaktif. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan sebagai dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya [17]. Pembagian senyawa yang termasuk flavonoid (gambar 2.1) adalah antosianin, flavon, isoflavon, flavanon, flavonol dan flavanol [18]. Sedangkan yang termasuk non flavonoid adalah kumarin, kuinin, morfin dan masih banyak lagi [19].



Gambar 2.1 Jenis-Jenis Flavonoid

Berbagai jenis senyawa, kandungan, dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran, dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon [17].

Dalam upaya mengoptimasi metode penentuan kuantitatif flavonoid dengan HPLC, [20] telah mendapatkan beberapa senyawa

flavonoid yang berpotensi sebagai anti-karsinogenik dari sejumlah sayuran dan buah. Hasil studi selanjutnya terhadap 28 jenis sayuran dan 9 jenis buah-buahan yang secara umum dikonsumsi di Belanda [20] menunjukkan adanya senyawa *quercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin* dan *luteolin*. Produk-produk limbah pertanian seperti kulit, biji, ataupun bagian lainnya yang biasanya dibuang dilaporkan juga mempunyai kandungan antioksidan yang cukup tinggi dibandingkan dengan bagian buah yang dapat dikonsumsi [3]. Beberapa penelitian tentang bahan alam sebagai sumber antioksidan alami disajikan pada tabel 2.1

Tabel 2. 1 Kemampuan Antioksidan dari Berbagai Bahan Alam

| Bahan baku | Metode | Pelarut | Suhu Ekstraksi | Waktu Ekstraksi | Jenis flavonoid | Hasil | Ref |
|----------------|-----------|--|----------------------|-----------------|---|--|------|
| Daun Tembakau | Perkolasi | Metanol 70 % | - | - | <i>Rutin, quercetin, apegenin</i> | Daun tembakau mengandung apigenin, <i>quercetin</i> dan <i>rutin</i> | [21] |
| Daun Beluntas | Maserasi | Etanol 96 % | 30 C (Suhu Ruang) | 7 hari | <i>quercetin, kaemferol dan myricetin</i> | Senyawa flavonoid yang teridentifikasi pada daun beluntas adalah jenis flavonol | [22] |
| Kulit Manggis | Maserasi | Metanol, air dan campuran methanol air | 35-45 C (Suhu ruang) | - | <i>epicatechin</i> | Ekstraksi yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang tertinggi yaitu menggunakan jenis pelarut metanol, suhu ekstraksi 35 C dan F:S = 1:15 | [23] |
| Daun Sambiloto | - | - | - | - | - | Penangkal gigitan ular dan sengatan beracun dari beberapa serangga, mengobati influenza, disentri, malaria dan infeksi pernapasan, anti-inflamasi, analgesik untuk pengobatan infeksi akut pada saluran pencernaan, pernapasan organ dan sistem kemih. | [24] |
| Daun Dewa | Sokletasi | Petroleum eter dan etanol 96 % | - | - | <i>Rutin</i> | Aktiviats antioksidan dari ekstrak daun dewa menunjukan hasil yang kecil | [11] |

| | | | | | | | |
|-----------------------|-----------|------------------------------------|------------|---|-----------------------------|--|------|
| Daun dan Biji Kelabat | | | | | Flavon | Antidiabetes | [25] |
| Biji Cabai | - | - | - | | <i>Quercetin, myricetin</i> | Mengurangi risiko tumorigenesis | [26] |
| Rambut Jagung | Maserasi | Campuran etanol-air | Suhu ruang | - | <i>Quercetin</i> | Rambut jagung memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi | [27] |
| Rambut Jagung | Sokletasi | Etanol dengan berbagai konsentrasi | - | - | <i>Quercetin</i> | Ekstrak tongkol jagung memiliki kandungan senyawa fenolik yang dapat berpotensi sebagai bahan aktif tabir surya. | [28] |

Dari tabel 2.1 dapat dilihat bahwa limbah dari bahan alam tersebut berpotensi sebagai sumber antioksidan alami, yang salah satunya adalah rambut jagung. Beberapa penelitian terkait tentang kemampuan antioksidan pada rambut jagung disajikan dalam tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Tabulasi Penelitian terkait rambut jagung

| Metode | Pelarut | Suhu Ekstraksi | Waktu Ekstraksi | Hasil | Referensi |
|----------------|-------------------------|----------------|-----------------|--|-----------|
| Ekstraksi cair | Air murni | 100 C | 20 menit | Ekstrak rambut jagung dapat mengurangi hiperglikemia pada mencit | [29]. |
| Maserasi | Etanol : air (1:1) | | | Menghambat peroksidasi lemak | [27] |
| Ekstraksi cair | Petroleum eter, etanol, | - | - | Pelarut etanol menunjukkan aktivitas antioksidan | [30] |

| | | | | | |
|-----------|-------------|------|---------|--|------|
| | air | | | tertinggi dibandingkan dengan menggunakan air atau petroleum eter | |
| Sokletasi | Etanol 60 % | | | Memiliki aktivitas anti-fatigue pada tikus dengan menghambat produksi asam laktat darah dan meningkatkan glikogen hati. | [31] |
| Sokletasi | Etanol 95 % | 70 C | 1,5 jam | Aktivitas antioksidan secara signifikan berkorelasi dengan kandungan total fenolik dan kandungan total flavonoid tetapi tidak berhubungan dengan antosianin sebagai fitokimia secara keseluruhan | [32] |

Tabel 2.2 menunjukkan bahwa rambut jagung mempunyai potensi yang besar untuk dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami.

2.3 Rambut Jagung sebagai Antioksidan Alami

Rambut Jagung merupakan bagian stigma dari putik bunga tanaman jagung. Rambut jagung berupa kumpulan benang halus yang memiliki kirasan panjang 10-20 cm yang berwarna hijau terang ataupun kuning kecokelatan seperti yang disajikan pada gambar 2.2 [33]. Di Indonesia sendiri ketersediaan jagung mencapai 18,8 juta ton pertahun. Dari banyaknya jumlah ketersediaan jagung ini, memberikan potensi banyaknya limbah rambut jagung yang juga tinggi [34].



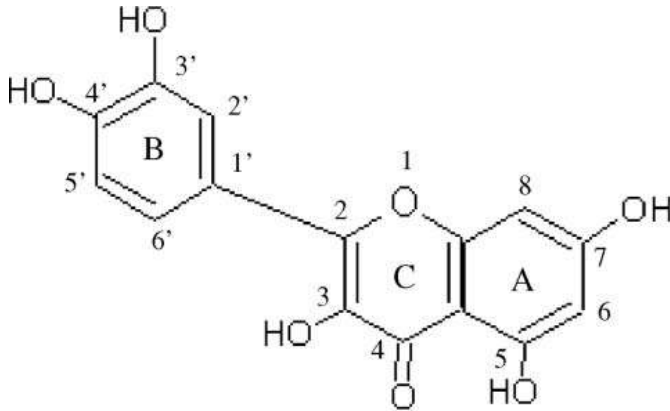
Gambar 2.2 Rambut Jagung

Rambut jagung dilaporkan telah digunakan pada pengobatan tradisional cina untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti peradangan pada kandung kemih, prostat, hipertensi, diabetes, dan juga sebagai *treatment* untuk masalah iritasi pada saluran kencing [30].

Rambut jagung mengandung beberapa jenis bahan kimia serta protein, vitamin, karbohidrat, garam Ca^{2+} , K^{+} , Mg^{2+} and Na^{+} , *fixed and volatile oils*, steroids (sitosterol and stigmasterol) [35], saponin, *tannins*, *phlobatannins*, *phenols*, *cardiac glycosides* [36], alkaloid, garam mineral, dan flavonoid. Menurut penelitian, rambut jagung mengandung komponen

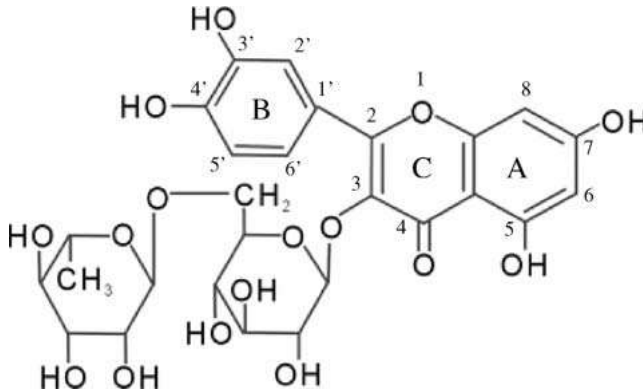
polifenol yang tinggi dengan aktivitas penangkal radikal bebas yang kuat sehingga rambut jagung dipertimbangkan sebagai sumber antioksidan alami yang berpotensi [35]. Pada penelitian lanjut [20] diketahui pula adanya senyawa-senyawa flavonoid pada rambut jagung seperti *quercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin*, *rutin*, dan *luteolin*. *Quercetin* dan *rutin* tersebut merupakan salah satu antioksidan yang paling umum dalam *flavonoid glycosides*. *Rutin* dan *quercetin* inilah yang berperan untuk menurunkan kadar gula di dalam plasma darah [4].

Quercetin atau 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone (Gambar 2.3) adalah salah satu flavonoid asli yang paling umum terjadi terutama dalam bentuk glikosidik seperti *rutin* atau 5,7,3',4'-OH, 3'-rutinose (Gambar 2.3) [37]. *Quercetin* dan *rutin* adalah flavonoid yang paling berlimpah dikonsumsi dalam bahan-bahan makanan [38]. Banyak orang yang telah menggunakan antioksidan alami *quercetin* untuk mencegah kerusakan oksidatif pada diabetes dengan tekanan oksidatif yang tinggi [39], sehingga *quercetin* dalam dosis yang lebih tinggi benar-benar mencegah elevasi kadar glukosa dalam plasma. Hasilnya pemberian *quercetin* memiliki keuntungan yang berpengaruh pada diabetes dengan mengurangi hiperglikemia [40].



Gambar 2.3 *Quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxy flavone).*

Rutin merupakan glikosida flavonol yang terdiri atas *quercetin* dan *disakarida rutinose* [41]. *Rutin* termasuk bioflavonoid dan berperan juga sebagai antioksidan seperti *quercetin* [42]. *Rutin* telah dilaporkan memiliki anti-inflamasi dan sifat vasoaktif (meningkatkan permeabilitas vaskuler). *Rutin* adalah antioksidan penting dan telah dilaporkan menjadi pengikat hidroksil dan superoksida radikal serta mencegah lipid peroksidasi [41]. *Rutin* telah digunakan sebagai zat pewarna, zat aditif dalam berbagai makanan dan minuman, serta untuk berbagai tujuan dalam kosmetik [21]. Pada penelitian lain menyatakan bahwa rutin dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa pada mencit yang diinduksi diabetes [31].



Gambar 2.4 *Rutin (5,7,3o,4o-OH, 3-rutinoside).*

Bila dilihat dari struktur molekulnya, *quercetin* tersusun atas 2 cincin benzen yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat membentuk cincin ketiga. Demikian juga rutin tersusun atas 2 cincin benzen dan dihubungkan oleh cincin ketiga yang merupakan bentuk glikosidik dari *quercetin* [43]. Adanya cincin benzen ini menyebabkan *quercetin* dan *rutin* bersifat nonpolar namun adanya gugus OH menyebabkan *quercetin* dan *rutin* sifat polar oleh karena itu *quercetin* dan *rutin* termasuk senyawa semi polar sehingga diperlukan pelarut yang semipolar juga contohnya etanol untuk mengekstrak bahan aktif tersebut menurut tingkat kepolarannya yang berbeda.

2.4 Ekstraksi

Sifat suatu senyawa ditentukan dari gugus fungsional yang ada. Suatu gugus hidroksil dalam sebuah molekul menyebabkan terbentuknya ikatan hidrogen dan perubahan besar dalam sifat-sifat terutama dalam hal kelarutan. Salah satu ciri penting dari pelarut adalah tetapan dielektrik (D). Tetapan dielektrik pelarut adalah besarnya gaya yang bekerja antara dua

muatan itu dalam pelarut. Tetapan ini menentukan sampai mana tingkat kemampuan melarutkan pelarut itu. Pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik rendah merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang non-polar dan pelarut-pelarut yang mempunyai tetapan dielektrik yang tinggi merupakan pelarut yang baik untuk zat-zat yang polar. Selain itu adanya perbedaan keelektronegatifan di dalam ikatan kovalen akan menimbulkan perbedaan muatan parsial atom-atom penyusun molekul. Perbedaan ini mengakibatkan senyawa mempunyai dipol-dipol dan senyawa bersifat polar. Senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar. Senyawa polar merupakan senyawa yang mempunyai momen dipol lebih besar dari pada nol. Hal ini karena molekul penyusunnya mempunyai atom tidak sejenis dan bentuknya asimetris. Senyawa non-polar adalah senyawa yang mempunyai momen dipol sama dengan nol. Hal ini karena molekul penyusunnya mempunyai atom sejenis dan bentuk molekulnya simetris, sehingga titik berat muatan positif berimpit dengan muatan negatif [44] .

Senyawa golongan alkohol seperti etanol merupakan pelarut yang sangat baik untuk mengekstraksi karena dapat mengekstraksi senyawa polar maupun nonpolar. Etanol memiliki dua gugus dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Adanya dua gugus tersebut pada etanol menyebabkan etanol dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa yang berbeda tingkat kepolarannya. Selain itu penggunaan air sebagai larutan pengekstrak yang dipadukan dengan etanol menyebabkan kemampuan campuran etanol air dalam mengekstrak lebih maksimal, dimana air merupakan senyawa polar

sehingga dapat mengekstrak senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda [28].

Dalam penelitian untuk memisahkan bahan aktif dari simplisia adalah dengan menggunakan ekstraksi. Ekstraksi adalah pemisahan senyawa aktif dari suatu bahan dengan bantuan pelarut yang sesuai sehingga didapatkan ekstrak. Terdapat macam-macam teknik ekstraksi terdiri dari perkolasi, maserasi, *Hot Continuous Extraction* (Sokletasi), destilasi uap, (MAE) *Microwave Assisted Extraction*, ekstraksi ultrasound (*Sonication*) dan ekstraksi *Supercritical Fluid*.

Perkolasi adalah ekstraksi dengan cara mengalirkan pelarut untuk melewati bahan padat yang akan diekstraksi. Pada poses ini pelarut yang memiliki kemampuan melarutkan bahan yang baik dapat lolos dengan mudah melewati bahan padat. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien [45].

Sokletasi merupakan ekstraksi secara berkesinambungan, dimana pelarut dipanaskan hingga menguap dan uap pelarut akan terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun melarutkan bahan dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa. Keuntungan metode ini adalah dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, memerlukan sedikit pelarut serta pemanasannya dapat diatur. Sedangkan kerugian dari metode ini adalah karena pelarut didaur ulang, ekstrak yang terkumpul pada wadah di sebelah bawah terus-menerus dipanaskan sehingga dapat menyebabkan reaksi

peruraian oleh panas. Selain itu jumlah total senyawa-senyawa yang diekstraksi akan melampaui kelarutannya dalam pelarut tertentu sehingga dapat mengendap dalam wadah dan membutuhkan volume pelarut yang lebih banyak untuk melarutkannya. Metode ini terbatas pada ekstraksi dengan pelarut murni atau campuran azeotropik dan tidak dapat digunakan untuk ekstraksi dengan campuran pelarut karena uapnya akan mempunyai komposisi yang berbeda dalam pelarut cair di dalam wadah [46]

Destilasi uap adalah sebuah proses di mana campuran cairan atau uap dari dua atau lebih zat dipisahkan menjadi fraksi komponen kemurnian yang diinginkan dengan memperhatikan titik didih zat panas. Tujuan dari destilasi uap air adalah untuk melarutkan bahan yang mengandung minyak volatil atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal [47].

Microwave Assisted Extraction (MAE) merupakan metode ekstraksi modern dimana microwave bekerja dengan memancarkan radiasi gelombang elektromagnetik non ionik yang berada di antara frekuensi 300 MHz hingga 300 GHz.[48]

Ultrasound adalah teknik ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasound. Ultrasound adalah getaran mekanik pada solid, liquid ataupun gas. gelombang mekanik menyebabkan kompresi dan ekspansi pada medium saat merambat. Terjadinya perulangan gelombang yang periodik menyebabkan terjadinya siklus ekspansi dan kompresi. Siklus kompresi mendorong molekul untuk bergabung, dan siklus ekspansi menarik molekul untuk menjauh [49].

Fluida superkritis (*Supercritical Fluid*) adalah salah satu teknik ekstraksi dimana pengambilan substansi aktif dari bahan pada keadaan suhu

dan tekanan diatas titik kritisnya. Saat substansi berada pada titik kritisnya, substansi tersebut tidak dapat dibedakan fase gas atau fase liquid [50].

Maserasi merupakan salah satu proses ekstraksi simplisia yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Metode maserasi digunakan untuk memperoleh komponen yang diinginkan dengan mengekstrak simplisia menggunakan pelarut tanpa suhu tinggi [51]. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena murah dan mudah dilakukan [22]. Maserasi ini cocok untuk mengekstrak komponen-komponen yang tidak tahan akan suhu tinggi [51]. Pada perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya. Lamanya waktu ekstraksi menyebabkan terjadinya kontak antara sampel dan pelarut lebih intensif sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila didukung dengan adanya pengocokan agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna [22].

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Rambut jagung (Pasar Keputran Surabaya)
- Etanol (C_2H_6O , teknis 98%, 46,07 g/mol)
- Etanol (C_2H_6O , teknis 70%, 46,07 g/mol)
- Aquades (H_2O , 18 g/gmol)
- Metanol (CH_4O , p.a 99,9%, Mallinckrodt Baker, 32,04 g/gmol)
- DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$, Sigma Aldrich, 394.32 g/mol)
- Asam galat ($C_7H_6O_5$, Sigma Aldrich, 170,12 g/gmol)
- Rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$, Sigma Aldrich, 610,52 g/gmol)
- Natrium Karbonat (Na_2CO_3 , UPT BPPTK LIPI Indonesia, 132,14 g/mol)
- Follin-ciocalteu, (Merck Darmstadt)
- Aluminium Klorida ($AlCl_3$, Ferak, 241,45 g/gmol)
- Cling wrap
- Aluminium foil
- BHT (*Butylated hydroxytoluene*)

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Grinder
- Saringan ukuran 100, 120 dan 140 mesh
- Fibrating screening (Retsoh AS 200)
- Erlenmeyer flask
- Botol schott
- Tabung reaksi
- Labu ukur

- Spatula
- Buret
- Pipet volume
- Kertas saring Whatman no 40
- Magnetic stirring bar
- Water bath
- Beaker glass
- Oven (Memmert UM 400)
- Moisture balance (OHAUS Halogen MB35)
- Neraca analitis (Mettler Toledo AL204)
- Spektrofotometer (Shimadzu UV mini-1240, Shimadzu Pharmaspec UV-1700)

3.2 Variabel

3.2.1 Variabel Tetap

Variabel tetap pada penelitian ini terdiri atas :

1. Rambut jagung yang digunakan merupakan rambut jagung lokal yang diambil dari Pasar Keputran Surabaya
2. Ukuran serbuk rambut jagung adalah -100/+120 mesh. Ukuran partikel yang kecil memperbesar luas bidang kontak pelarut dengan serbuk, sehingga mempercepat laju ekstraksi. Jika terlalu kecil akan mempersulit pemisahan padatan dan cairan. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan ukuran partikel -100/+120 mesh.
3. Rambut jagung dikeringkan sampai kadar air $< 10\%$. Mikroba dan jamur sulit tumbuh dan berkembang pada serbuk rambut jagung dengan kadar air $< 10\%$.

4. Digunakan perbandingan massa serbuk rambut jagung : volume pelarut = 1 : 20 (b/v). Dengan jumlah pelarut yang lebih kecil maka senyawa yang terekstrak juga lebih sedikit, sedangkan dengan jumlah pelarut yang lebih besar, maka penguapan pelarut membutuhkan energi dan waktu yang lebih lama untuk mengeringkan.
5. Volume pelarut 20 mL. Volume ini diperkirakan cukup untuk berbagai analisa yang akan dilakukan.

3.2.2 Variabel Bebas

1. Konsentrasi etanol (% massa) 98 %, 70 %, 50 % dan 0 % (air). Menurut penelitian sebelumnya etanol adalah pelarut terbaik yang dapat mengekstrak senyawa fenolik dan flavonoid dibandingkan pelarut lain [30]. Dengan mencampurkan etanol dan air dengan berbagai konsentrasi sehingga didapatkan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda.
2. Waktu maserasi adalah 3,4,5,6,7,8 dan 9 jam. Pada percobaan pendahuluan didapatkan perolehan TPC sudah menurun dan konstan pada waktu maserasi 9 jam, dan sebelum 3 jam didapatkan perolehan TPC yang sangat kecil sehingga variasi waktu dilakukan pada waktu 3-9 jam saja.

3.3 Prosedur Penelitian

1. Rambut jagung dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 2 hari hingga kadar airnya < 10 %.
2. Rambut jagung dihancurkan dengan menggunakan grinder.
3. Serbuk rambut jagung diayak untuk mendapatkan ukuran - 100/+120 mesh.

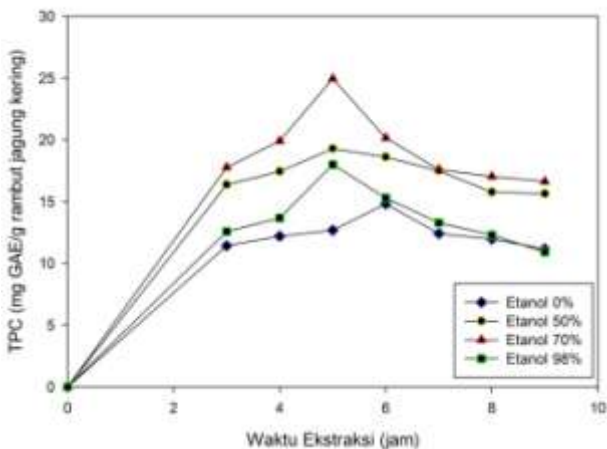
4. ± 1 gram serbuk rambut jagung dicampur dengan 20 mL larutan etanol (dengan kadar etanol tertentu) didalam botol shcott dan suhunya dijaga pada suhu ruang selama t jam (3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9 jam).
5. Larutan ekstrak diambil sampling sesuai variasi konsentrasi dan waktu maserasi untuk disaring menggunakan kertas saring Whatman no 40.
6. Sampel ekstrak diuji kandungan total fenolik (Lampiran B) dan total flavonoid (Lampiran C) terhadap ekstrak yang diperoleh.
7. Ekstrak yang memberikan hasil TPC dan TFC tertinggi diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Lampiran D).

BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, bahan baku rambut jagung dianalisa kadar airnya dan diperoleh hasilnya sebesar 85,8 %. Kemudian rambut jagung tersebut dikeringkan hingga kadar air kurang dari 10% dan dihancurkan. Serbuk rambut jagung tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan variasi pelarut dan waktu ekstraksi.

4.1 Perolehan Fenolik

Proses ekstraksi rambut jagung dilakukan pada suhu ruang dengan menggunakan pelarut campuran etanol dan air pada berbagai konsentrasi. Pengaruh waktu ekstraksi dan kadar etanol terhadap perolehan fenolik, dinyatakan dalam *Total Phenolic Content* (TPC), dalam ekstrak rambut jagung disajikan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Perolehan Fenolik

Dari gambar 4.1 terlihat bahwa perolehan TPC, dinyatakan sebagai *mg gallic acid equivalent* (GAE) per gram rambut jagung kering terlihat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi dan kadar pelarut yang digunakan. Perolehan TPC semakin tinggi seiring dengan semakin lamanya waktu ekstraksi yaitu sampai 5 jam untuk semua jenis pelarut yang mengandung etanol dan 6 jam untuk pelarut air. Hal ini disebabkan semakin lama waktu ekstraksi, semakin lama kontak antara dinding rambut jagung dengan pelarut sehingga semakin banyak senyawa- senyawa fenolik (solut) dalam rambut jagung yang terdesorpsi ke dalam pelarut. Pada umumnya kenaikan perolehan TPC yang relatif signifikan diperoleh pada kurun waktu 3 jam pertama dikarenakan pada saat awal percobaan, konsentrasi solut dalam pelarut adalah nol, sedangkan konsentrasi solut di dalam rambut jagung masih tinggi sehingga terdapat *driving force* perpindahan massa yang besar. Sebaliknya, pada kurun waktu ekstraksi 3-5 jam untuk pelarut yang mengandung etanol dan 3-6 jam untuk pelarut air, konsentrasi solut di dalam rambut jagung relatif lebih rendah dibandingkan awal percobaan, sedangkan konsentrasi solut di dalam pelarut sudah relatif tinggi. Hal ini menyebabkan nilai *driving force* yang relatif lebih rendah sebagaimana ditandai dengan melandainya garis perolehan TPC pada rentang waktu ekstraksi tersebut sesuai dengan hukum Fick II yang memprediksi bahwa laju perubahan konsentrasi melalui satuan luas dalam satuan waktu [52]. Kenaikan waktu ekstraksi di atas 5 jam untuk pelarut-pelarut yang mengandung etanol dan 6 jam untuk pelarut air menyebabkan perolehan TPC (Gambar 4.1) yang diamati berkurang. Hal ini mengindikasikan adanya kemungkinan senyawa-senyawa antioksidan rambut jagung mengalami kerusakan atau degradasi komponen seiring dengan lamanya waktu ekstraksi. Peningkatan waktu ekstraksi menaikkan kemungkinan

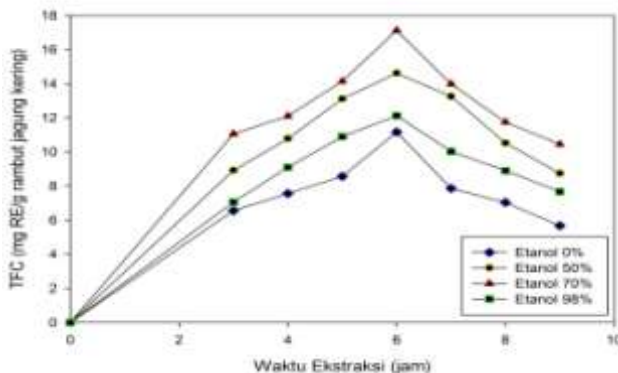
terjadinya dekomposisi atau oksidasi senyawa fenolik karena kontak yang relatif lama dengan faktor lingkungan seperti cahaya dan oksigen [53]. Oleh karena itu waktu optimum untuk ekstraksi senyawa fenolik dari rambut jagung adalah 5 jam dengan menggunakan pelarut etanol 70%.

Perolehan waktu ekstraksi optimum sekitar 5 jam untuk ketiga pelarut yang mengandung etanol dan 6 jam untuk pelarut air menunjukan bahwa keberadaan etanol di dalam pelarut memfasilitasi perpindahan massa dari senyawa-senyawa antioksidan rambut jagung ke dalam pelarut tersebut. Secara umum, perolehan TPC dalam ekstrak rambut jagung dengan pelarut mengandung etanol lebih tinggi dibandingkan perolehan TPC pada proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut air (Gambar 4.1). Untuk pelarut etanol 98%, TPC yang diperoleh adalah sebesar 18,0 mg GAE per gram rambut jagung kering. Etanol mempunyai gugus yang bersifat polar dan non-polar. Gugus hidroksil (-OH) merupakan gugus yang sangat polar karena tingkat keelektronegatifan yang tinggi dari oksigen. Di sisi lain, etanol juga memiliki karbon non-polar (C_2H_5) sehingga dapat melarutkan senyawa non-polar [54]. Keberadaan air sebanyak 2% mungkin dapat membantu proses difusi senyawa-senyawa rambut jagung yang bersifat polar. Kenaikan kadar air di dalam pelarut sehingga diperoleh etanol 70% menyebabkan kenaikan perolehan TPC dari 18,0 mg GAE per gram rambut jagung kering menjadi 25,0 mg GAE per gram rambut jagung kering (Gambar 4.1). Hal ini menunjukan bahwa dengan semakin besarnya komposisi air di dalam pelarut, semakin banyak pula senyawa-senyawa polar dalam rambut jagung yang dapat berdifusi ke dalam pelarut, meskipun hal ini juga dapat menurunkan kemungkinan senyawa-senyawa non-polar terekstrak ke dalam pelarut tersebut. Kenaikan kadar air yang lebih besar lagi yaitu pada penggunaan etanol 50% memberikan perolehan TPC yang

lebih rendah yaitu 19,3 mg GAE per gram rambut jagung kering tetapi nilai TPC ini masih lebih besar daripada penggunaan etanol 98%. Ditinjau dari waktu ekstraksi yang sama yaitu 5 jam, penurunan nilai TPC ini (dibandingkan dengan penggunaan pelarut etanol 70%) mengindikasikan bahwa di dalam rambut jagung lebih banyak terkandung senyawa-senyawa yang bersifat non-polar. Penggunaan air sebagai pelarut mendukung hal ini dimana perolehan TPC-nya paling kecil yaitu 12,7 mg GAE per gram rambut jagung kering (Gambar 4.1). Perolehan TPC yang lebih besar pada penggunaan pelarut yang merupakan campuran etanol air daripada pelarut air atau etanol murni juga dilaporkan di literatur ([55]; [56]; [57]).

4.2 Perolehan Flavonoid

Pengaruh waktu ekstraksi dan kadar etanol terhadap perolehan flavonoid, dinyatakan dalam *Total Flavonoid Content* (TFC), disajikan pada Gambar 4.2.



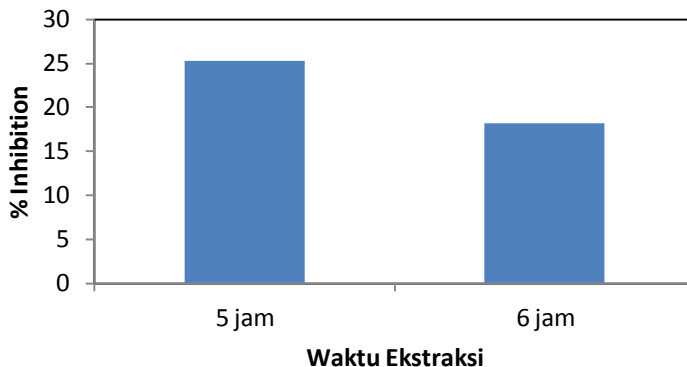
Gambar 4.2 Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Perolehan Flavonoid

Dari Gambar 4.1 terlihat peningkatan waktu ekstraksi sampai 6 jam menyebabkan perolehan TFC semakin besar dan kemudian nilai TFC akan menurun jika waktu ekstraksi ditambah. Hal ini terjadi untuk semua jenis pelarut. Penurunan perolehan TFC ini mungkin juga disebabkan karena kesetimbangan difusi senyawa flavonoid ke dalam pelarut sudah tercapai dalam waktu 6 jam dan penambahan waktu ekstraksi juga mungkin menyebabkan senyawa-senyawa flavonoid tersebut mengalami degradasi atau dekomposisi. Sama seperti perolehan TPC (Gambar 4.1), pelarut etanol 70% memberikan perolehan TFC yang tertinggi yaitu mencapai 16.2 mg *rutin equivalent* (RE) per gram rambut jagung kering. Selanjutnya penggunaan etanol 50, 98, dan 0% menurunkan perolehan TFC masing-masing sebanyak 14,6; 12,1 dan 11,1 mg RE per gram rambut jagung kering. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa dalam rambut jagung banyak yang bersifat non-polar sehingga penggunaan pelarut etanol pekat (98%) dan air tidak memfasilitasi difusi senyawa-senyawa flavonoid dari rambut jagung ke dalam pelarut. Perolehan TFC yang lebih besar dari pelarut campuran etanol-air daripada penggunaan pelarut etanol pekat juga telah dilaporkan [52]. Dari data yang disajikan pada Gambar 4.2 terlihat bahwa waktu optimum untuk ekstraksi senyawa flavonoid adalah 6 jam (pelarut etanol 70%).

4.3 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak cair dan ekstrak kering dilakukan dengan metode DPPH (*DPPH radical-scavenging activity assay*). Semakin besar nilai *DPPH radical-scavenging activity assay* yang dinyatakan dalam *percentage (%) inhibition*, semakin besar kemampuan ekstrak tersebut untuk menyumbangkan atom hidrogen atau menetralkan radikal

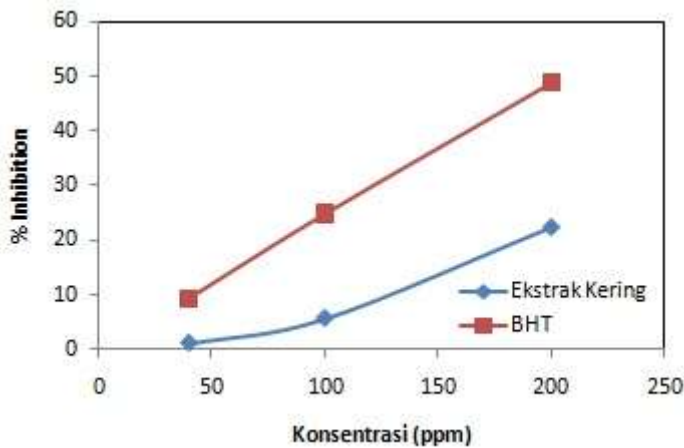
bebas. Hasil uji *percentage inhibition* dari ekstrak etanol 70% disajikan dalam Gambar 4.3 untuk ekstrak cair dan Gambar 4.4 untuk ekstrak kering. Pada ekstrak cair, ekstrak diperoleh dari maserasi serbuk rambut jagung yang dilakukan selama 5 jam dan 6 jam, sedangkan ekstrak yang dikeringkan diambil dari ekstrak cair yang menunjukkan % inhibisi tertinggi yaitu ekstrak dengan waktu maserasi 5 jam.



Gambar 4.3 % Inhibition Ekstrak Cair yang Memiliki Yield Fenolik dan Flavonoid Tertinggi

Berdasarkan gambar 4.3 dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak cair 5 jam lebih tinggi dibandingkan ekstrak cair 6 jam. Hal ini dikarenakan menurut uji TPC, hasil kadar TPC tertinggi terdapat pada ekstrak 5 jam sehingga senyawa fenolik tersebut dapat menangkal radikal bebas (DPPH) lebih banyak dibandingkan senyawa fenolik pada ekstrak cair 6 jam. Semakin banyak senyawa fenolik dalam ekstrak, maka semakin banyak pula senyawa antioksidan dalam ekstrak tersebut. Senyawa antioksidan mempunyai kemampuan dalam menetralkan radikal bebas, dalam penelitian ini dinyatakan dalam % *inhibition*. Semakin besar % *inhibition* tersebut, menandakan semakin besar pula kemampuan

antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Oleh karena itu ekstrak yang lebih baik digunakan adalah ekstrak dengan waktu ekstraksi 5 jam sehingga ekstrak tersebut dikeringkan menggunakan *rotary vapor* dan *vacuum oven* untuk melihat pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap penghambatan radikal bebas DPPH dan hasilnya disajikan pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kering terhadap Persentase Inhibition

Dari gambar 4.4 terlihat bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak kering semakin meningkat seiring bertambah besarnya konsentrasi ekstrak kering tersebut. Dalam hal ini, konsentrasi ekstrak kering mempengaruhi banyaknya radikal bebas yang dapat dihambat oleh antioksidan dalam ekstrak tersebut. Hal ini disebabkan dengan semakin besarnya konsentrasi ekstrak, semakin banyak pula antioksidan yang dikandung dalam ekstrak tersebut sehingga dapat menghambat radikal bebas lebih banyak. Aktivitas antioksidan ekstrak kering ini kemudian dibandingkan dengan antioksidan komersial BHT (Gambar 4.5) sama seperti aktivitas antioksidan dari

ekstrak kering, konsentrasi BHT yang semakin tinggi menyebabkan % *inhibition*-nya semakin besar. Pada Gambar 4.4 juga terlihat bahwa % *inhibition* BHT jauh lebih tinggi daripada ekstrak kering rambut jagung. Dengan membandingkan Gambar 4.3 dan 4.4 terlihat bahwa % *inhibition* ekstrak kering lebih rendah daripada ekstrak cair meskipun dari ekstrak yang sama. Hal ini mungkin disebabkan karena perlakuan proses pengeringan yang dilakukan untuk mendapatkan ekstrak kering tersebut. Zainol dkk (2009) melaporkan adanya pengaruh metode pengeringan terhadap perolehan flavonoid dalam produk ekstrak kering (*Centella Asiatica*). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pengeringan dengan menggunakan *vacuum oven* dapat menurunkan kandungan flavonoidnya sebanyak 87,6%. Terkait dengan hal tersebut, rendahnya % *inhibition* ekstrak kering dibandingkan dengan ekstrak cair yang diamati pada studi ini mungkin disebabkan karena metode pengeringan menggunakan *vacuum oven* yang telah dilakukan sehingga kandungan fenolik atau flavonoidnya mengalami dekomposisi sehingga konsentrasi dan aktivitasnya berkurang.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Konsentrasi etanol mempengaruhi banyaknya perolehan fenolik yang didapatkan. Etanol 70% memberikan perolehan fenolik dan flavonoid yang paling tinggi yaitu sebesar 24,95 mg GAE dan 17,12 mg RE per gram rambut jagung kering.
2. Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin besar perolehan fenolik dan flavonoid yang didapatkan. Akan tetapi waktu ekstraksi yang terlalu lama dapat menurunkan perolehan fenolik dan flavonoid. Hal ini mungkin disebabkan karena terdegradasinya senyawa fenolik dan flavonoid oleh cahaya dan oksigen.
3. Aktivitas antioksidan, dinyatakan dalam *percentage inhibition*, semakin meningkat seiring bertambahnya konsentrasi antioksidan.

5.2 Saran

Perlunya penelitian lebih lanjut terkait pemanfaatan rambut jagung sebagai sumber antioksidan alami yaitu isolasi senyawa-senyawa aktif rambut jagung beserta uji aktivitas masing-masing senyawa aktif sehingga dapat dipelajari senyawa manakah yang lebih dominan sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nawaly, H., A.B. Susanto, and J.L.A. Uktolseja, *Skripsi Senyawa Bioaktif dari Rumput Laut sebagai Antioksidan*, dalam *Perikanan dan Ilmu Kelautan* 2013, Universitas Kristen Satya Wacana: p. 11-12.
2. Setiawan, Y., *Pencegahan Kencing Manis (Diabetes Melitus) dengan Lari Pagi dan Konsumsi Pangan yang Kaya Antioksidan*, 2010, TPB IPB: p. 15-17.
3. Indriani, H., *Pengembangan Potensi Rambut Jagung (Zea mays) dan Kulit Jeruk Manis (Citrus sinensis) sebagai Alternatif Terapi Limbah Herbal Meluruhkan Batu Empedu (Gallstone) secara Alami*, dalam *Universitas Negeri Malang* 2010, Malang: p. 4-5.
4. Lukacinova, A., et al., *Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Mellitus in Rats*. ACTA VET. BRNO, 2008. 77: p. 175-182.
5. Dungir, S.G., D.G. Katja, and V.S. Kamu, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*. JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE, 2012. 1(1).
6. Winarsi, H., *Antioksidan Alami dan Radikal*. 2007, Yogyakarta: Kanisius: p. 22-28.
7. Panjaitan, T.D., B. Prasetyo, and L. Limantara, *Skripsi Peranan Karotenoid Alami dalam Menangkal Radikal Bebas di dalam Tubuh*, in *Magister Biologi* 2010, Universitas Kristen Satya Wacana: p. 45-52.
8. Setiawan, B. and E. Suhartono, *Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus*, in *Maj Kedokt Indon* 2005, p. 86-91.
9. Lobo, V., et al., *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health*. Pharmacogn Rev, 2010. 4(8): p. 118-26.
10. Gordon, M.H., *The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro*. Food Antioxidants Elsevier Applied Food Science 1990: p. 1-18.
11. Widyaningsih, W., *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (Gynura procumbens) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)*, 2010, Universitas Ahmad Dahlan: Yogyakarta: p. 12-22.
12. Hamilton, R.J. and J.C. Allen, *Rancidity in Foods*. 1983, London: Applied Science: p. 82-91.
13. Ji, L.L., *Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise*, in *Society for Experimental Biology and Medicine* 1999: Madison. p. 283-292.

14. Warsi and A. Guntarti, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Paprika Hijau (Capsicum annum L.)*. Jurnal Ilmiah Kefarmasian, 2013. **3**(1): p. 9-19.
15. Soto-Vaca, A., et al., *Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits*. J. Agric. Food Chem, 2012. **60**(27): p. 6658–6677.
16. Pratt, D.E., *Natural Antioxidants from Plant Material*, 1992, ACS Symposium Series.
17. Redha, A., *Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis*, 2010: Pontianak: p. 56-67.
18. Ferreira, O. and S.P. Pinho, *Solubility of Flavonoids in Pure Solvents*. Ind. Eng. Chem. Res., 2012. **51**(18): p. 6586–6590.
19. Lenny, S., *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*, 2006, Universitas Sumatera Utara: Medan: p. 73-82.
20. Hertog, M.G.L., P.C.H. Hollman, and M.B. Katan., *Content of Potentially Anticarcinogenic Flavonoids of 28 Vegetables and 9 Fruits Commonly Consumed in The Netherlands*. J. Agric. Food Chem 1992 b. **40**: p. 2379-2383.
21. Fathiazada, F., et al., *Extraction of Flavonoids and Quantification of Rutin from waste Tobacco Leaves*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2006. **3**: p. 222-227.
22. Koirewoa, Y.A., Fatimawali, and W.I. Wiyono, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (Pluchea indica L.)*, 2008, Universitas Sam Ratulangi: Manado: p. 83-96.
23. Miryanti, Y.I.P.A., et al., *Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*, 2011, UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN: Bandung: p. 101-122.
24. Rao, Y.K., et al., *Flavonoids and andrographolides from Andrographis paniculata*. Phytochemistry, 2004. **65**: p. 2317–2321.
25. Kaviarasan, S., et al., *In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (Trigonella foenum graecum) seeds*. Food Chemistry, 2007. **103**: p. 31–37.
26. Miean, K.H. and S. Mohamed, *Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants*, 2000.
27. Ebrahimzadeh, M.A., et al., *ATIDEPRESSAT ACTIVITY OF CORSILK*. Pharmacologyonline, 2009. **3**: p. 647-652.
28. Lumempouwa, L.I., E. Suryantoa, and J.J.E. Paendonga, *Aktivitas Anti UV-B Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (Zea mays L.)*. JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE, 2012. **1**(1): p. 1-4.

29. Guo, J., et al., *The effects of corn silk on glycaemic metabolism*. Nutrition & Metabolism, 2009. **6**: p. 47.
30. El-Ghorab, A., K.F. El-Massry, and T. Shibamoto, *Chemical Composition of the Volatile Extract and Antioxidant Activities of the Volatile and Nonvolatile Extracts of Egyptian Corn Silk (Zea mays L.)*. J. Agric. Food Chem, 2007. **55**: p. 9124–9127.
31. Hu, Q.-L., et al., *Purification and anti-fatigue activity of flavonoids from corn silk*. International Journal of Physical Sciences, 2010. **5**(4): p. 321-326.
32. Sarepoua, E., et al., *Relationships between phytochemicals and antioxidant activity in corn silk*. International Food Research Journal, 2013. **20**(5): p. 2073-2079.
33. Milind, P. and D. Isha, *Zea Maise : A Modern Craze*. International Reasearch Journal of Pharmacy, 2013. **4**(6): p. 39-43.
34. BPS, *Perkembangan Beberapa Indikator Utama Sosial Ekonomi Indonesia*, 2013, Badan Pusat Statistik: Jakarta, Indonesia.
35. Nurhanan, A.R., W.I.W. Rosli, and S.S.J. Mohsin, *Total Polyphenol Content and Free Radical Scavenging Activity of Cornsilk (Zea mays hairs)*. Sains Malaysiana, 2012. **41**(10): p. 1217–1221.
36. Solihah, M.A., W.I.W. Rosli, and A.R. Nurhanan, *Phytochemicals screening and total phenolic content of Malaysian Zea mays hair extracts*. International Food Research Journal, 2012. **19**(4): p. 1533-1538.
37. Havsteen, B., *Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency*. Biochem Pharmacol 1983. **32**: p. 1141-1148.
38. Nakamura, Y., S. Ishimitsu, and Y. Tonogai, *Effects of Quercetin and Rutin on Serum and Hepatic Lipid Concentrations, Fecal Steroid Excretion and Serum Antioxidant Properties*. Journal of Health Science, 2000. **46**(4): p. 229–240.
39. Kamalakkannan, N. and P.S.M. Prince, *Antihyperglycaemic and Antioxidant Effect of Rutin a Polyphenolic Flavonoid, in Streptozotocin-Induced Diabetic Wistar Rats*. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2006. **98**: p. 97–103.
40. Lukačínová, A., et al., *Structure-activity relationships of preventive effects of flavonoids in alloxan-induced diabetes mellitus in rats*. Journal of Animal and Feed Sciences, 2008. **17**: p. 411–421.

41. Hussain, M.T., et al., *Rutin, a natural flavonoid, protects against gastric mucosal damage in experimental animals*. Asian Journal of Traditional Medicines, 2009. **4**(5): p. 188-197.
42. Azevedo, M.I., et al., *The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy*. Molecular Pain, 2013. **9**(1): p. 53.
43. Waji, R.A. and A. Sugrani, *Flavonoid (Quercetin)*, 2009, Universitas Hassanudin: p. 116-130.
44. Effendy, *Teori VSEPR, Kepolaran dan Gaya Antar Molekul*. 2006: Bayumedia Publishing: p. 122-140.
45. Gamse, T., *Extraction*, 2004, Graz University of Technology: Barcelona: p. 148-156.
46. Jensen, w.B., *The Origin of the Soxhlet Extractor*. Journal of Chemical Education, 2007. **84**(12): p. 1913.
47. Tam, M.T., *Distillation*, 2009, R.C. Costello and Associated. Inc.
48. Tatke, P. and Y. Jaiswal, *An Overview of Microwave Assisted Extraction and its Applications in Herbal Drug Research*. Research Journal of Medicinal Plant, 2011. **5**: p. 21-31.
49. Rahardjo, A. and F. Salim, *Ekstraksi Senyawa Fenolik dari Daun Sirih Untuk Antioksidan Antibakteri Alami dengan Metode Ultrasound-Assisted Extraction*, 2013, Universitas Katolik Widya Mandala: Surabaya: p. 17-21.
50. Rahmawati, A. and D.S. Pang, *Extraction of Phytochemicals from Mimosa pudica Linn using Supercritical CO₂: Effect of Pressure, Temperature, and CO₂ Loading*, 2013, WIDYA MANDALA CATHOLIC UNIVERSITY: Surabaya: p. 28-36.
51. Pratiwi, E., *Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (Andrographis paniculata (Burm.F.) Nees)*, 2010, Bogor Agricultural University: Bogor: p. 93-111.
52. Jacques, S.L. and S.A. Prahl, *Biomedical Optics*. Vol. 5. 1998: Oregon Graduate Institute: p. 85-106.
53. Grafianita, *Kadar Kurkuminoid, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Simplesia Temulawak pada Berbagai Teknik Pengeringan*, 2011, Institut Pertanian: Surakarta: p. 65-71.
54. Hart, H., L.E. Craine, and D.J. Hart, *Organic Chemistry*. 2003, Jakarta: Erlangga: p. 65-82.
55. Wang, J., et al., *Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Wheat Bran*. Food Chemistry, 2008. **106**: p. 804-810.

56. Zhang, Z.S., et al., *Optimization of Ethanol-Water Extraction of Lignans from Flaxseed*. Separation Purification Technology, 2007. **57**: p. 17-24.
57. Sultana, B., F. Anwar, and M. Ashaf, *Effect of Extraction Solvent/Technique on The Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts*. Molecules, 2009. **14**: p. 2167-2180.
58. Ismail, J., M.R.J. Runtuwene, and F. Fatimah, *Penentuan Total Febolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (Areca vestiaria Giseke)*. Jurnal Ilmiah Sains, 2012. **12**(2).
59. Amic, D.D., D. Beslo, and Trinajstic, *Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids*. Croatia Chem.Acta, 2003. **76**(1): p. 55-61.

LAMPIRAN A (PEMBUATAN LARUTAN)

A.1. Pembuatan Reagen Follin-ciocalteu 1:10 (v/v) sebanyak 55 mL

1. Diambil 5 mL *Follin-ciocalteu* dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 50 mL.
2. Diaduk hingga homogen.

A.2. Pembuatan Larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 7,5 % (w/v) sebanyak 100 mL

1. Ditimbang natrium karbonat sebanyak 7,5 gram menggunakan neraca kasar dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 mL
2. Diaduk hingga homogen.

A.3. Pembuatan Larutan Etanol 50 % sebanyak 500 mL

1. Diambil etanol 98 % sebanyak 255,1 mL dengan gelas ukur dan dilarutkan dengan akuades sampai 500 mL
2. Diaduk hingga homogen

A.4. Pembuatan Larutan Etanol 70% sebanyak 500 mL

1. Diambil etanol 98 % sebanyak 357,1 mL dengan gelas ukur dan dilarutkan dengan akuades sampai 500 mL
2. Diaduk hingga homogen.

A.5. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat 250 mg/L sebanyak 100 mL

1. Ditimbang 0,025 gram asam galat dengan neraca analitis.
2. Dimasukkan pada beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan sedikit akuades.

3. Dituangkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga mencapai batas tanda pada labu ukur 100 mL
4. Diaduk hingga homogen sehingga akan didapatkan larutan asam galat dengan konsentrasi 250 mg/L.
5. Prosedur tahap 1 sampai 4 berlaku juga untuk pelarut etanol 50%, 70% dan 98%.

A.6. Pembuatan Larutan Aluminium Klorida (AlCl_3) 10% (w/v) sebanyak 100 mL

1. Ditimbang aluminium klorida sebanyak 10 gram menggunakan neraca kasar dan dilarutkan dengan methanol sebanyak 100 mL.
2. Diaduk hingga homogen.

A.7. Pembuatan Larutan Induk Rutin 500 mg/L sebanyak 100 mL

1. Ditimbang rutin sebanyak 0,05 gram menggunakan neraca analitis.
2. Dimasukkan pada beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan sedikit metanol.
3. Dituangkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol hingga mencapai batas tanda pada labu ukur 100 mL.
4. Dikocok hingga homogen sehingga akan didapatkan larutan induk rutin dengan konsentrasi 500 mg/L.

A.8. Pembuatan Larutan Induk DPPH 25 mg/L sebanyak 100 mL

1. Ditimbang 2,5 mg DPPH
2. Dimasukan pada beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan sedikit pelarutnya (etanol untuk ekstrak cair dan methanol untuk ekstrak kering).

3. Dituangkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan pelarutnya hingga mencapai batas tanda pada labu ukur 100 mL
4. Dikocok hingga homogeny sehingga akan didapatkan larutan DPPH dengan konsentrasi 25 mg/L

A.9. Pembuatan Larutan Induk BHT 200 mg/L sebanyak 25 mL

1. Ditimbang BHT sebanyak 5 mg menggunakan neraca analitis.
2. Dimasukkan pada beaker glass 50 mL dan dilarutkan dengan sedikit metanol.
3. Dituangkan kedalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan metanol hingga mencapai batas tanda pada labu ukur 25 mL.
4. Dikocok hingga homogen sehingga akan didapatkan larutan induk BHT dengan konsentrasi 200 mg/L.

LAMPIRAN B (*TOTAL PHENOLIC CONTENT - TPC*)

Analisa TPC ini dilakukan dengan menggunakan metode Waterhouse (2005) yang telah dimodifikasi.

B.1. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

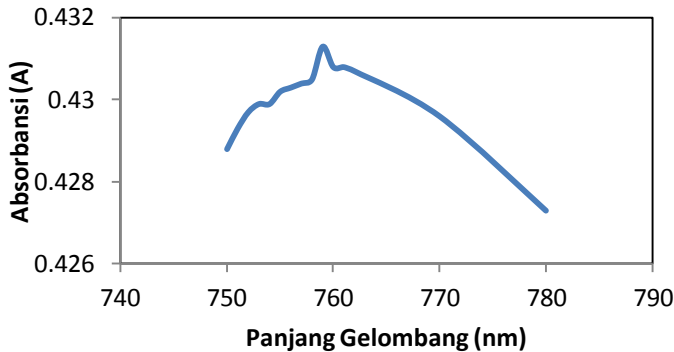
B.1.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

1. Diambil 1 mL asam galat (pelarut akuades) dengan konsentrasi 30 mg/L menggunakan pipet volum dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
2. Ditambahkan 5 mL reagen Follin-ciocalteu 1:10 (v/v) dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang serta keadaan gelap.
3. Ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 % (w/v) dan didiamkan selama 90 menit pada suhu ruang dan keadaan gelap.
4. Diukur absorbansi pada panjang gelombang antara 710-780 nm menggunakan spektrofotometer dan hasilnya disajikan pada tabel B.1.

Tabel B. 1 Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut akuades) pada berbagai Panjang Gelombang

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi |
|------------------------|---------------|
| 750 | 0,4288 |
| 751 | 0,4293 |
| 752 | 0,4297 |
| 753 | 0,4299 |
| 754 | 0,4299 |
| 755 | 0,4302 |
| 756 | 0,4303 |
| 757 | 0,4304 |
| 758 | 0,4305 |
| 759 | 0,4313 |
| 760 | 0,4308 |
| 761 | 0,4308 |

Dari data di tabel B.1 dibuat plot hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi larutan asam galat dengan pelarut akuades (gambar B.1).



Gambar B. 1 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Akuades

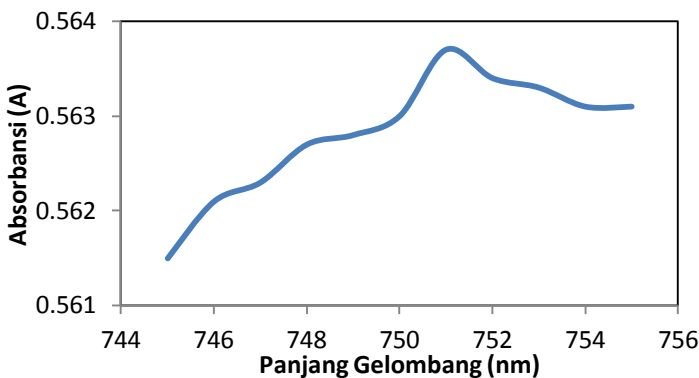
Dari gambar B.1 diperoleh panjang gelombang maksimum asam galat untuk pelarut akuades adalah 759 nm.

5. Prosedur tahap 1 sampai 4 diulangi dengan mengganti pelarut akuades dengan pelarut etanol 50%, 70 % dan 98%. Hasilnya disajikan untuk masing-masing pelarut yaitu etanol 50% (tabel B.2 ; gambar B.2), etanol 70% (pada tabel B.3 ; gambar B.3) serta etanol 98% (pada tabel B.4 ; gambar B.4) sebagai berikut.

Tabel B. 2 Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut etanol 50%) pada berbagai Panjang Gelombang

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi (A) |
|------------------------|----------------|
| 745 | 0,5615 |
| 746 | 0,5621 |
| 747 | 0,5623 |
| 748 | 0,5627 |
| 749 | 0,5625 |
| 750 | 0,5627 |
| 751 | 0,5637 |
| 752 | 0,5632 |
| 753 | 0,5635 |
| 754 | 0,5629 |
| 755 | 0,5631 |

Dari data di tabel B.2 dibuat plot hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi larutan asam galat dengan pelarut etanol 50% (gambar B.2).



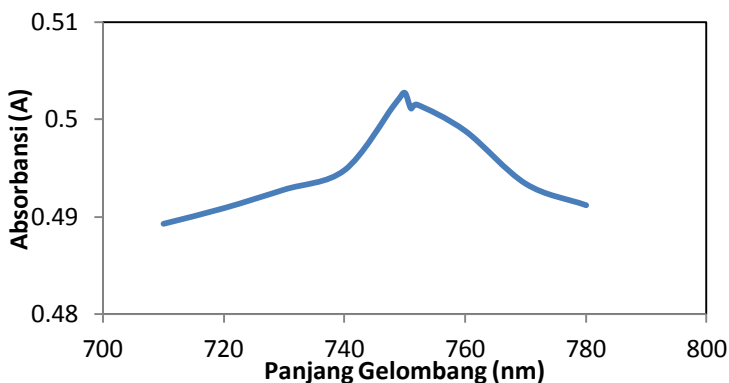
Gambar B. 2 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Etanol 50%

Dari gambar B.2 diperoleh panjang gelombang maksimum asam galat untuk pelarut etanol 50% adalah 751 nm.

Tabel B. 3 Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut etanol 70%) pada berbagai Panjang Gelombang

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi (A) |
|------------------------|----------------|
| 710 | 0,4893 |
| 720 | 0,4909 |
| 730 | 0,4928 |
| 740 | 0,4948 |
| 748 | 0,5013 |
| 749 | 0,5021 |
| 750 | 0,5027 |
| 751 | 0,5011 |
| 752 | 0,5015 |
| 760 | 0,4988 |
| 770 | 0,4934 |

Dari data di tabel B.3 dibuat plot hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi larutan asam galat dengan pelarut etanol 70% (gambar B.3).



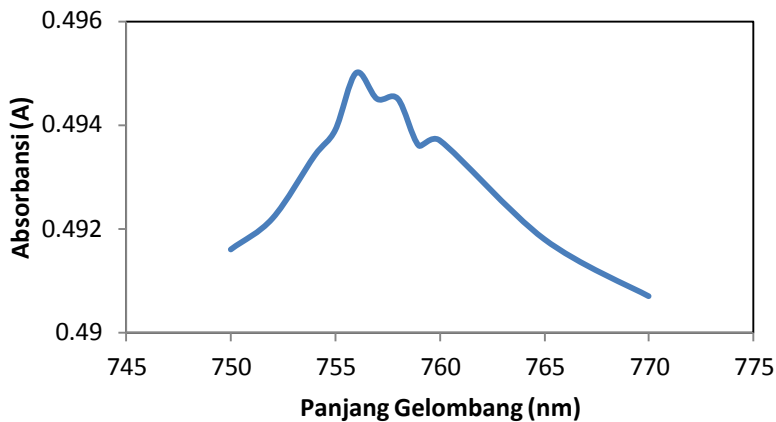
Gambar B. 3 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Etanol 70%

Dari gambar B.3 diperoleh panjang gelombang maksimum asam galat untuk pelarut etanol 70% adalah 750 nm.

Tabel B. 4 Absorbansi Larutan Asam Galat (pelarut etanol 98%) pada berbagai Panjang Gelombang

| Panjang Gelombang (nm) | Absorbansi |
|------------------------|--------------|
| 750 | 0,4916 |
| 752 | 0,4922 |
| 754 | 0,4934 |
| 755 | 0,4939 |
| 756 | 0,495 |
| 757 | 0,4945 |
| 758 | 0,4945 |
| 759 | 0,4936 |
| 760 | 0,4937 |
| 765 | 0,4918 |
| 770 | 0,4907 |

Dari data di tabel B.4 dibuat plot hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansi larutan asam galat dengan pelarut etanol 98% (gambar B.4).



Gambar B. 4 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Asam Galat untuk Pelarut Etanol 98%

Dari gambar B.4 diperoleh panjang gelombang maksimum asam galat untuk pelarut etanol 98% adalah 756 nm.

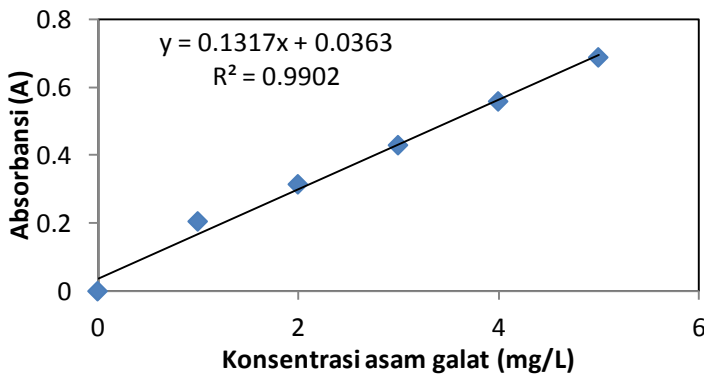
B.1.2 Pembuatan Kurva Standar

1. Dibuat larutan standar asam galat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 mg/L dengan mengambil masing-masing larutan induk asam galat sebanyak 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; 2 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar ukuran 10 mL kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai tanda batas.
2. Diambil masing-masing 1 mL larutan asam galat dengan menggunakan pipet volume dan dimasukan kedalam tabung reaksi.
3. Ditambahkan 5 mL reagen Follin-ciocalteu 1:10 (v/v) dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang serta keadaan gelap.
4. Ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 % (w/v) dan didiamkan selama 90 menit pada suhu ruang dan keadaan gelap.
5. Diukur absorbansi pada panjang gelombang untuk masing-masing pelarut menggunakan spektrofotometer dan hasilnya disajikan pada tabel B.5 dan gambar B.5.

Tabel B. 5 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut akuades) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Asam Galat (mg/L) | Absorbansi (A) |
|-------------------------------|----------------|
| 0 | 0,0000 |
| 1 | 0,2051 |
| 2 | 0,3142 |
| 3 | 0,4292 |
| 4 | 0,5579 |
| 5 | 0,6873 |

Dari tabel B.5 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar B.5



Gambar B. 5 Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Akuades

Dari gambar B.5 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi sebagai persamaan berikut $y = 0,1317x + 0,0363$ dimana x = konsentrasi asam galat (ppm) dan y = absorbansi (A).

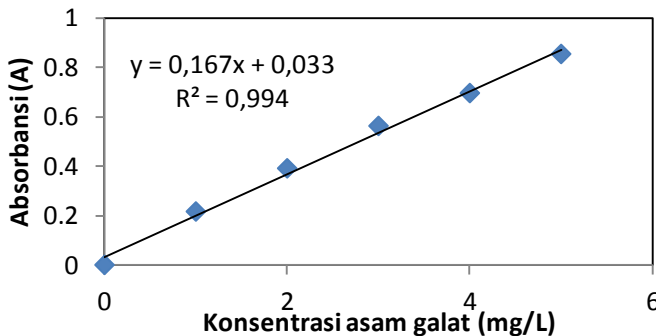
- Prosedur tahap 1 sampai 5 diulangi dengan mengganti pelarut akuades dengan pelarut etanol 50%, 70% dan 98%. Hasilnya disajikan untuk masing-masing pelarut yaitu etanol 50% (tabel

B.6; gambar B.6), etanol 70% (tabel B.7 ; gambar B.7) serta etanol 98% (tabel B.8 ; gambar B.8) sebagai berikut

Tabel B. 6 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut etanol 50%) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Asam Galat (mg/L) | Absorbansi (A) |
|-------------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 1 | 0,2158 |
| 2 | 0,3904 |
| 3 | 0,5618 |
| 4 | 0,6946 |
| 5 | 0,8527 |

Dari tabel B.6 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar B.6



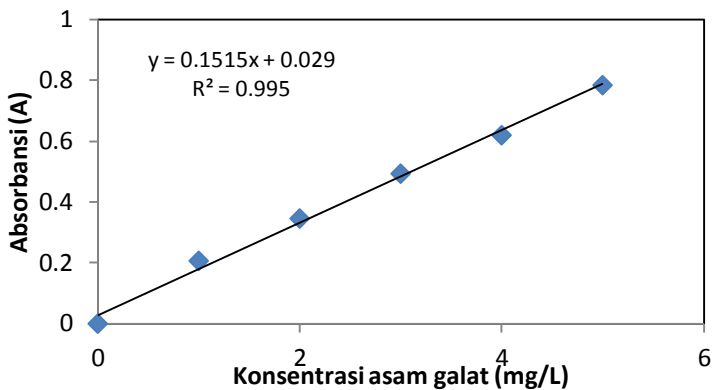
Gambar B.6 Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Etanol 50 %

Dari gambar B.6 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi sebagai persamaan berikut $y = 0,1678x + 0,0332$ dimana x = konsentrasi asam galat (ppm) dan y = absorbansi (A).

Tabel B. 7 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut etanol 70%) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Asam Galat (mg/L) | Absorbansi (A) |
|-------------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 1 | 0,2062 |
| 2 | 0,3454 |
| 3 | 0,4926 |
| 4 | 0,6189 |
| 5 | 0,7833 |

Dari tabel B.7 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar B.7



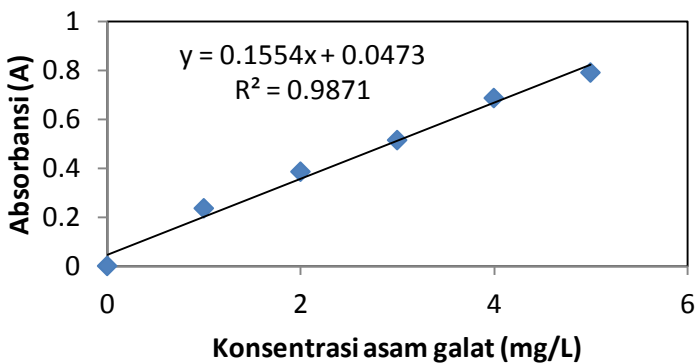
Gambar B. 7 Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Etanol 70 %

Dari gambar B.7 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi sebagai persamaan berikut $y = 0,1515x + 0,0290$ dimana x = konsentrasi asam galat (ppm) dan y = absorbansi (A)

Tabel B. 8 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat (pelarut etanol 98%) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Asam Galat (mg/L) | Absorbansi (A) |
|-------------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 1 | 0,2358 |
| 2 | 0,3856 |
| 3 | 0,5148 |
| 4 | 0,6869 |
| 5 | 0,7912 |

Dari tabel B.8 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar B.8



Gambar B. 8 Kurva Standar Asam Galat untuk Pelarut Etanol 98 %

Dari gambar B.8 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi sebagai persamaan berikut $y = 0,1554x + 0,0473$ dimana x = konsentrasi asam galat (ppm) dan y = absorbansi (A)

Kurva baku hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi yang disajikan pada Gambar B.5, B.6, B.7 dan B.8 yang persamaannya ditabelkan dan disajikan pada Tabel B.9.

Tabel B. 9 Persamaan dan *Square Root* dari Masing-Masing Pelarut

| Pelarut | Persamaan | R^2 |
|------------|------------------------|-------|
| Akuades | $y = 0.1317x + 0.0363$ | 0.990 |
| Etanol 50% | $y = 0,1678x + 0,0332$ | 0,994 |
| Etanol 70% | $y = 0.1515x + 0.0290$ | 0.995 |
| Etanol 98% | $y = 0.1554x + 0.0473$ | 0.987 |

Dimana x = konsentrasi asam galat (mg/L) dan y = absorbansi (A)

B.2. Analisa TPC

B.2.1 Prosedur Analisa TPC

1. Diambil 1 mL ekstrak dan dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambah akuades sampai batas tanda (pengenceran 25x).
2. Diambil 1 mL ekstrak yang telah diencerkan dan ditambahkan 5 mL reagen Follin-ciocalteu 1:10 (v/v).
3. Didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang serta keadaan gelap.
4. Ditambahkan 4 mL natrium karbonat 7,5 % (w/v) dan didiamkan selama 90 menit pada suhu ruang dan keadaan gelap.
5. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer dan hasilnya disajikan pada tabel B.10.

6. Prosedur tahap 1 sampai 4 diulangi dengan mengganti pelarut akuades dengan pelarut etanol 50%, 70% serta 98%, dan hasilnya disajikan pada tabel B.10.

B.2.2 Perhitungan Analisa TPC

Contoh perhitungan diambil dari tabel B.9, data $t = 3$ jam. Perolehan direplikasi sebanyak 1 kali dan diperoleh hasil sebagai berikut:

$$t = 3 \text{ jam} \rightarrow A = 0.3390$$

$$A = 0.1317C + 0.036 \quad \text{dimana } A = \text{absorbansi (A)}$$

$$0.3390 = 0.1317C + 0.036 \quad C = \text{konsentrasi TPC (mg GAE/L)}$$

$$C = 2.2984 \text{ mg GAE/L}$$

$$\text{Kadar TPC} = C \times f \times h \times \frac{1}{E} \times \frac{S}{m}$$

Dimana, $C = \text{konsentrasi TPC (mg GAE/L)}$

$f = \text{faktor pengenceran}$

$h = \text{volume total setelah ekstrak direaksikan dengan reagen-reagen (L)}$

$E = \text{volume ekstrak yang direaksikan dengan reagen-reagen (L)}$

$S = \text{volume total pelarut yang digunakan (L)}$

$m = \text{massa rambut jagung (g)}$

$$\text{Kadar TPC} = 2.2984 \frac{\text{mg GAE}}{\text{L}} \times 25 \times 0.01 \text{ L} \times \frac{1}{0.001 \text{ L}} \times \frac{0.01527296 \text{ L}}{1.0001 \text{ g}}$$

$$= 8,8135 \text{ mg GAE / g rambut jagung kering}$$

Data-data lainnya dihitung dengan cara yang sama dan hasilnya disajikan pada tabel B.10.

Tabel B. 10 Data Perhitungan TPC

| Pelarut | Waktu Ekstraksi (Jam) | Faktor Pengenceran | Absorbansi (A) | | TPC (mg GAE / g rambut jagung kering) | | |
|------------|-----------------------|--------------------|----------------|--------|---------------------------------------|---------|-----------|
| | | | 1 | 2 | 1 | 2 | Rata-Rata |
| Akuades | 3 | 25 | 0.3390 | 0.3318 | 8.8315 | 8.6216 | 8.7266 |
| | 4 | 25 | 0.3523 | 0.3585 | 9.2192 | 9.3999 | 9.3095 |
| | 5 | 25 | 0.3678 | 0.3689 | 9.6709 | 9.7030 | 9.6870 |
| | 6 | 25 | 0.4384 | 0.4098 | 11.7287 | 10.8951 | 11.3119 |
| | 7 | 25 | 0.3630 | 0.3591 | 9.5310 | 9.4174 | 9.4742 |
| | 8 | 25 | 0.3530 | 0.3462 | 9.2396 | 9.0414 | 9.1405 |
| | 9 | 25 | 0.3334 | 0.3242 | 8.6683 | 8.4001 | 8.5342 |
| Etanol 50% | 3 | 25 | 0,5892 | 0,5706 | 12.7168 | 12.2915 | 12.5042 |
| | 4 | 25 | 0,6253 | 0,6059 | 13.5422 | 13.0986 | 13.3204 |
| | 5 | 25 | 0.6765 | 0.6783 | 14.7128 | 14.7540 | 14.7334 |
| | 6 | 25 | 0.6552 | 0.6544 | 14.2258 | 14.2075 | 14.2167 |
| | 7 | 25 | 0.6228 | 0.6120 | 13.4850 | 13.2381 | 13.3616 |
| | 8 | 25 | 0.5535 | 0.5662 | 11.9005 | 12.1909 | 12.0458 |
| | 9 | 25 | 0.5512 | 0.5602 | 11.8480 | 12.0538 | 11.9509 |
| Etanol 70% | 3 | 25 | 0,5552 | 0,5766 | 13.3057 | 13.8468 | 13.5763 |
| | 4 | 25 | 0,6428 | 0,6179 | 15.5208 | 14.8911 | 15.2060 |
| | 5 | 25 | 0.7849 | 0.7802 | 19.1140 | 18.9951 | 19.0545 |
| | 6 | 25 | 0,6316 | 0,6438 | 15.2376 | 15.5461 | 15.3918 |
| | 7 | 25 | 0,5528 | 0,5681 | 13.2450 | 13.6319 | 13.4384 |
| | 8 | 25 | 0.5569 | 0.5299 | 13.3487 | 12.6659 | 13.0073 |
| | 9 | 25 | 0.5123 | 0.5511 | 12.2209 | 13.1995 | 12.7102 |
| Etanol 98% | 3 | 25 | 0,4378 | 0,4360 | 9.6269 | 9.5826 | 9.6047 |
| | 4 | 25 | 0,4621 | 0,4804 | 10.2255 | 10.6763 | 10.4509 |
| | 5 | 25 | 0.6464 | 0.5637 | 14.7655 | 12.7283 | 13.7469 |

| | | | | | | | |
|--|---|----|--------|--------|---------|---------|---------|
| | 6 | 25 | 0.5162 | 0,5266 | 11.5582 | 11.8144 | 11.6863 |
| | 7 | 25 | 0,4694 | 0,4486 | 10.4053 | 9.8929 | 10.1491 |
| | 8 | 25 | 0.4332 | 0.4231 | 9.5136 | 9.2648 | 9.3892 |
| | 9 | 25 | 0.3792 | 0.3914 | 8.1834 | 8.4839 | 8.3336 |

Prinsip penentuan kandungan fenolik secara spektrofotometer ini adalah reduksi Follin-Ciocalteu oleh gugus hidroksil yang berasal dari senyawa fenolik sehingga membentuk senyawa kompleks yang berwarna biru. Reagen Follin-Ciocalteu sangat tidak stabil pada suasana basa dan ion fenolat hanya terbentuk dalam suasana basa. Oleh karena itu ditambahkan Na_2CO_3 agar menjadikan suasana basa pada larutan sehingga gugus hidroksil lebih mudah untuk mereduksi Follin-Ciocalteu oleh ion fenolat secara maksimal. Semakin banyaknya warna biru setara dengan semakin banyaknya ion fenolat yang terbentuk, maka semakin banyak pula fenolik yang ada di dalam ekstrak [58]. Hal tersebut disajikan pada Gambar B.10 sebagai berikut.



Gambar B. 9 Perubahan Warna pada Uji TPC dengan Menggunakan Pelarut Akuades

Dari Tabel B.10 dapat dilihat bahwa pada pelarut akuades, semakin bertambahnya waktu, maka semakin banyak pula fenolik yang terekstrak. Hal ini didukung oleh perubahan warna yang diamati terjadi pada uji TPC.

Dari Gambar B.10 dapat dilihat bahwa semakin banyak kandungan fenolik pada ekstrak, maka ion fenolat yang berwarna biru semakin pekat karena ion fenolat yang terbentuk semakin banyak.

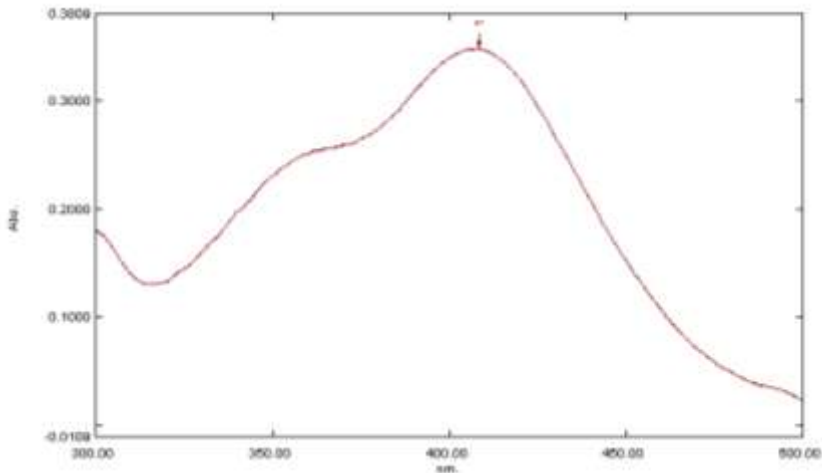
LAMPIRAN C (*TOTAL FLAVONOID CONTENT - TFC*)

Analisa TFC ini dilakukan dengan menggunakan metode Liu (2010) yang telah dimodifikasi.

C.1. Pembuatan Kurva Standar Rutin

C.1.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

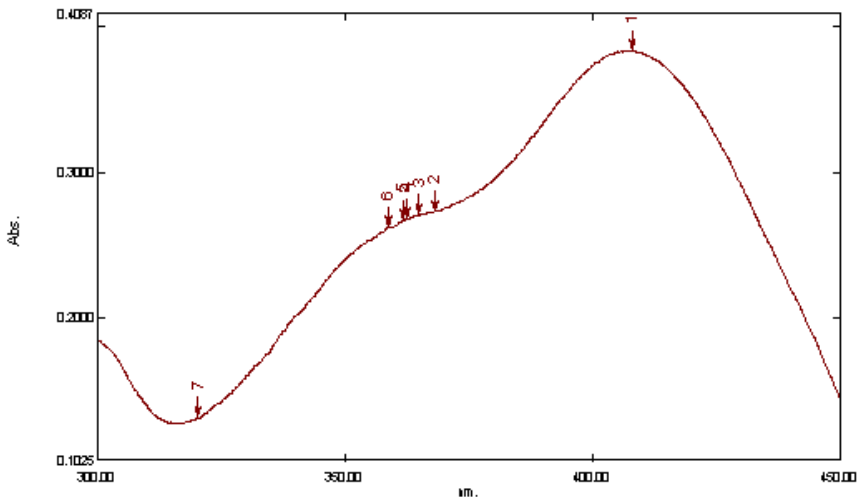
1. Diambil 0,5 mL larutan rutin 350 mg/L ke dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 4 mL metanol, 0,5 mL pelarut akuades, 5 mL AlCl_3 10%.
2. Didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit dan keadaan gelap
3. Diukur absorbansi pada panjang gelombang antara 400-420 nm menggunakan spektrofotometer dan hasilnya disajikan pada gambar C.1.



Gambar C.1 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Akuades

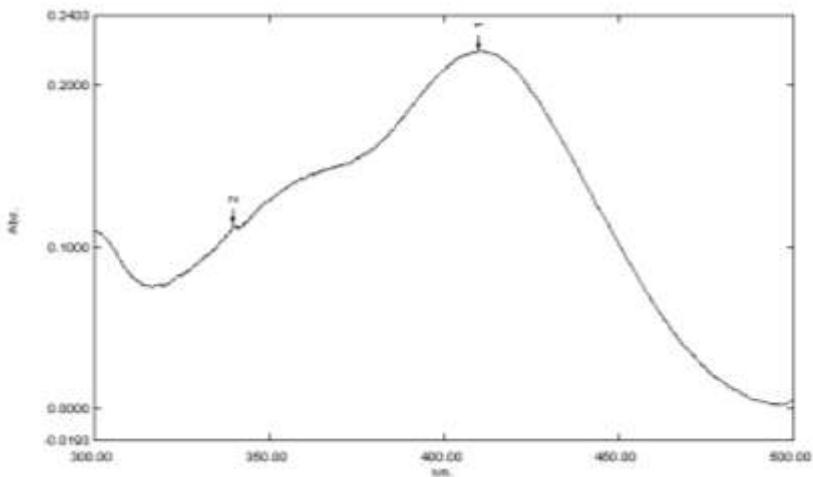
Dari gambar C.1 diperoleh panjang gelombang maksimum rutin untuk pelarut akuades adalah 408,4 nm

4. Prosedur tahap 1 sampai 3 diulangi dengan mengganti pelarut akuades dengan pelarut etanol 50%, 70 % dan 98%. Hasilnya disajikan untuk masing-masing pelarut yaitu etanol 50% (gambar C.2), etanol 70% (gambar C.3) serta etanol 98% (gambar C.4) sebagai berikut.



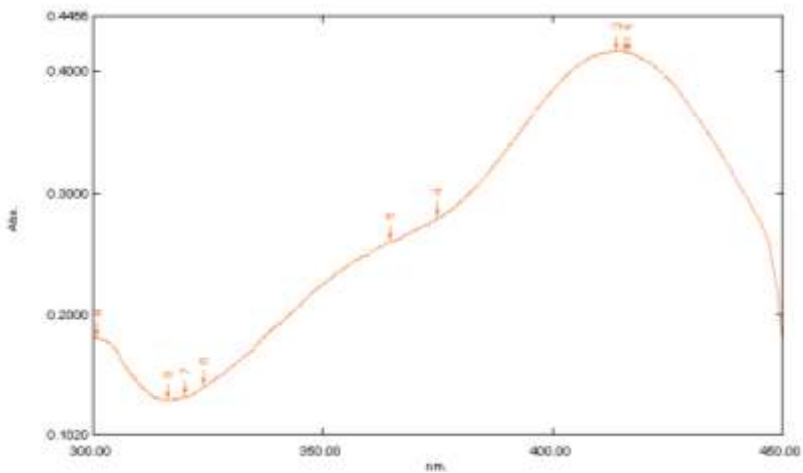
Gambar C.2 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Etanol 50%

Dari gambar C.2 diperoleh panjang gelombang maksimum rutin untuk pelarut etanol 50% adalah 407,9 nm.



Gambar C.3 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Etanol 70%

Dari gambar C.3 diperoleh panjang gelombang maksimum rutin untuk pelarut etanol 70% adalah 410 nm.



Gambar C.4 Hubungan antara Panjang Gelombang dan Absorbansi Larutan Rutin untuk Pelarut Etanol 98%

Dari gambar C.4 diperoleh panjang gelombang maksimum rutin untuk pelarut etanol 98% adalah 413,8 nm.

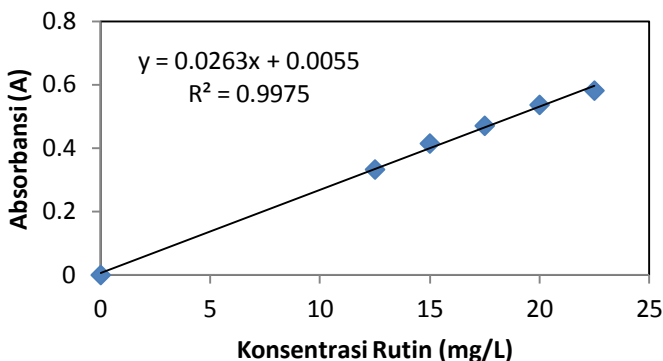
C.1.2 Pembuatan Kurva Standar

1. Dibuat larutan standar rutin dengan konsentrasi 250, 300, 350, 400 dan 450 mg/L dengan mengambil masing-masing larutan induk rutin (500 mg/L) sebanyak 5; 6; 7; 8 ; 9 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar ukuran 10 mL kemudian ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas.
2. Diambil masing-masing 0,5 mL rutin dan dimasukkan kedalam tabung reaksi.
3. Ditambahkan masing-masing 4 mL metanol, 0,5 mL pelarut akuades, 5 mL $AlCl_3$ 10% dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang serta keadaan gelap.
4. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer dan hasilnya disajikan pada tabel C.1 .

Tabel C. 1 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut akuades) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Rutin (mg/L) | Absorbansi (A) |
|--------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 12,5 | 0,333 |
| 15 | 0,415 |
| 17,5 | 0,471 |
| 20 | 0,537 |
| 22,5 | 0,582 |

Dari tabel C.1 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar C.5.



Gambar C. 5 Kurva Standar Rutin untuk Pelarut Akuades

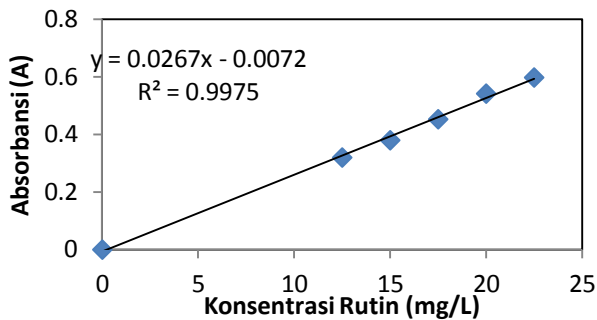
Dari gambar C.5 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi sebagai persamaan berikut $y = 0,0263x + 0,0055$ dimana x = konsentrasi rutin dan y = absorbansi (A).

5. Prosedur tahap 1 sampai 3 diulangi dengan mengganti pelarut akuades dengan pelarut etanol 50%, 70 % dan 98%. Hasilnya disajikan untuk masing-masing pelarut yaitu etanol 50% (tabel C.2; gambar C.6), etanol 70% (tabel C.3 ; gambar C.7) serta etanol 98% (tabel C.4 ; gambar C.8) sebagai berikut.

Tabel C. 2 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut etanol 50%) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Rutin (mg/L) | Absorbansi (A) |
|--------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 12,5 | 0,32 |
| 15 | 0,38 |
| 17,5 | 0,453 |
| 20 | 0,542 |
| 22,5 | 0,598 |

Dari tabel C.2 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar C.6.



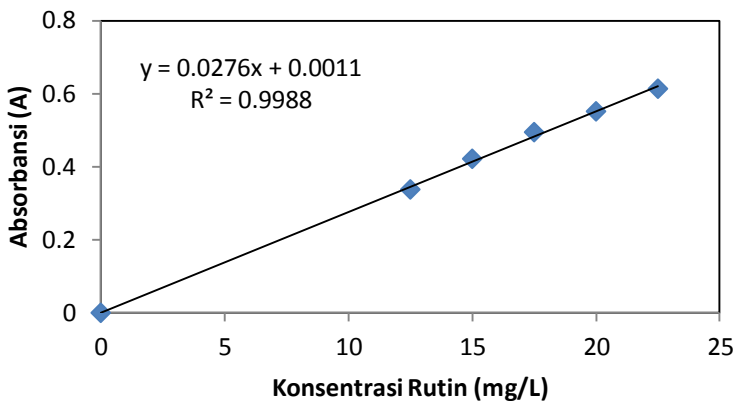
Gambar C. 6 Kurva Standar Rutin untuk Pelarut Etanol 50 %

Dari gambar C.6 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi sebagai persamaan berikut $y = 0,0267x - 0,0072$ dimana x = konsentrasi rutin dan y = absorbansi (A).

Tabel C. 3 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut etanol 70%) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Rutin (mg/L) | Absorbansi (A) |
|--------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 12,5 | 0,338 |
| 15 | 0,422 |
| 17,5 | 0,495 |
| 20 | 0,552 |
| 22,5 | 0,614 |

Dari tabel C.3 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar C.7.



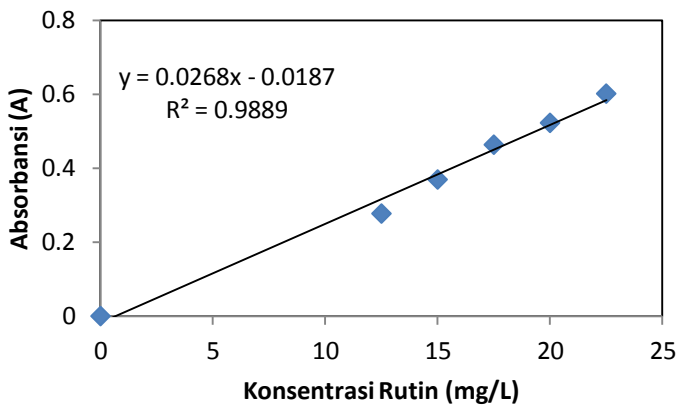
Gambar C. 7 Kurva Standar untuk Pelarut Etanol 70 %

Dari gambar C.7 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi sebagai berikut sebagai persamaan berikut $y = 0,0276x + 0,0011$ dimana x = konsentrasi rutin dan y = absorbansi (A).

Tabel C. 4 Pembacaan Absorbansi Larutan Standar Rutin (pelarut etanol 98%) pada Berbagai Konsentrasi

| Konsentrasi Rutin (mg/L) | Absorbansi (A) |
|--------------------------|----------------|
| 0 | 0 |
| 12,5 | 0,277 |
| 15 | 0,369 |
| 17,5 | 0,463 |
| 20 | 0,522 |
| 22,5 | 0,601 |

Dari tabel C.4 dibuat grafik hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi seperti yang disajikan pada gambar C.8.



Gambar C. 8 Kurva Standar untuk Pelarut Etanol 98 %

Dari gambar C.8 diperoleh kurva hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi sebagai berikut sebagai persamaan berikut $y = 0,0268x - 0,0187$ dimana x = konsentrasi rutin dan y = absorbansi (A).

Kurva baku hubungan antara konsentrasi rutin dengan absorbansi yang disajikan pada Gambar C.1, C.2, C.3 dan C.4 yang persamaannya ditabelkan dan disajikan pada Tabel C.5.

Tabel C. 5 Persamaan dan *Square Root* dari Masing-Masing Pelarut

| Pelarut | Persamaan | R^2 |
|------------|------------------------|--------|
| Akuades | $y = 0,0263x + 0,0055$ | 0.9975 |
| Etanol 50% | $y = 0,0267x - 0,0072$ | 0,9975 |
| Etanol 70% | $y = 0,0276x + 0,0011$ | 0.9988 |
| Etanol 98% | $y = 0,0268x - 0,0187$ | 0.9889 |

Dimana x = konsentrasi rutin (mg/L) dan y = absorbansi (A)

C.2. Analisa TFC

C.2.1 Prosedur Analisa TFC

1. Diambil 0,5 mL dari masing-masing sampel dengan pelarut akuades dan waktu ekstraksi yang telah ditentukan
2. Ditambahkan masing-masing 4,5 mL metanol, 5 mL $AlCl_3$ 10% dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang serta keadaan gelap.
3. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 408,4 nm menggunakan spektrofotometer dan hasilnya disajikan pada C.6
4. Prosedur tahap 1 sampai 3 diulangi dengan mengganti pelarut akuades dengan pelarut etanol 50%, 70% dan 98% dengan panjang gelombang tertentu dan hasilnya disajikan pada tabel C.6.
5. Besarnya TFC dalam ekstrak dinyatakan dalam mg rutin equivalent (RE) per liter

C.2.2 Perhitungan Analisa TFC

Contoh perhitungan diambil dari tabel C.6, data $t = 3$ jam. Perolehan direplikasi sebanyak 1 kali dan diperoleh hasil sebagai berikut:

$$t = 3 \text{ jam} \rightarrow A = 0,4530$$

$$A = 0.0263C + 0.0055 \quad \text{dimana, } A = \text{absorbansi (A)}$$

$$0,4530 = 0.0263C + 0.0055 \quad C = \text{konsentrasi TFC (mg RE/L)}$$

$$C = 17,0152 \text{ mg RE/L}$$

$$\text{Kadar TFC} = C \times f \times h \times \frac{1}{E} \times \frac{S}{m}$$

Dimana, C = konsentrasi TPC (mg RE/L)

f = faktor pengenceran

h = volume total setelah ekstrak direaksikan dengan reagen-reagen (L)

E = volume ekstrak yang direaksikan dengan reagen-reagen (L)

S = volume total pelarut yang digunakan (L)

m = massa rambut jagung (g)

$$\begin{aligned} \text{Kadar TFC} &= 17,0152 \frac{\text{mg RE}}{\text{L}} \times 1 \times 0.01 \text{ L} \times \frac{1}{0.0005 \text{ L}} \times \\ &\frac{0,01527296 \text{ L}}{1,0001 \text{ g}} \\ &= 5,2633 \text{ mg RE / g rambut jagung kering} \end{aligned}$$

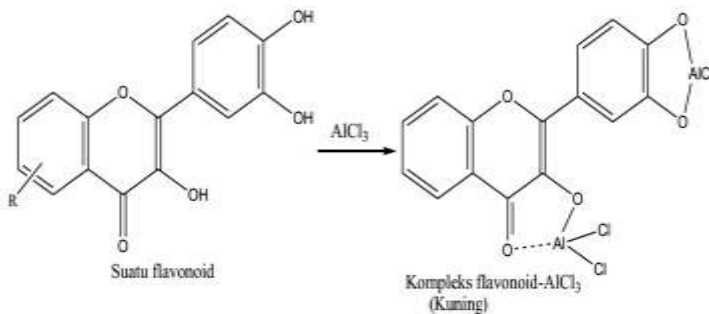
Data-data lainnya dihitung dengan cara yang sama dan hasilnya disajikan pada tabel C.6.

Tabel C. 6 Data Perhitungan TFC

| Pelarut | Waktu Ekstraksi (Jam) | Faktor pengenceran | Absorbansi (A) | | TFC (mg RE / g rambut jagung kering) | | |
|------------|--------------------------|-----------------------|----------------|--------|--------------------------------------|---------|-----------|
| | | | 1 | 2 | 1 | 2 | Rata-rata |
| Akuades | 3 | 1 | 0,4530 | 0,4089 | 5.2632 | 4.7451 | 5.0042 |
| | 4 | 1 | 0,4850 | 0,5074 | 5.6392 | 5.9024 | 5.7708 |
| | 5 | 1 | 0,5680 | 0,5557 | 6.6143 | 6.4698 | 6.5421 |
| | 6 | 1 | 0,7750 | 0,6871 | 9.0462 | 8.0136 | 8.5299 |
| | 7 | 1 | 0,4910 | 0,5407 | 5.7097 | 6.2936 | 6.0016 |
| | 8 | 1 | 0,4570 | 0,4670 | 5.3102 | 5.4277 | 5.3690 |
| | 9 | 1 | 0,4220 | 0,3252 | 4.8990 | 3.7618 | 4.3304 |
| Etanol 50% | 3 | 2 | 0,2834 | 0,2825 | 6.8234 | 6.8023 | 6.8129 |
| | 4 | 2 | 0,3654 | 0,3215 | 8.7502 | 7.7187 | 8.2344 |
| | 5 | 2 | 0,4295 | 0,4087 | 10.2563 | 9.7676 | 10.0120 |
| | 6 | 2 | 0,4754 | 0,4606 | 11.3348 | 10.9871 | 11.1610 |
| | 7 | 2 | 0,4542 | 0,3935 | 10.8367 | 9.4104 | 10.1236 |
| | 8 | 2 | 0,3448 | 0,3252 | 8.2661 | 7.8056 | 8.0359 |
| | 9 | 2 | 0,2488 | 0,3058 | 6.0104 | 7.3498 | 6.6801 |
| Etanol 70% | 3 | 2 | 0,3951 | 0,3534 | 8.9171 | 7.9736 | 8.4453 |

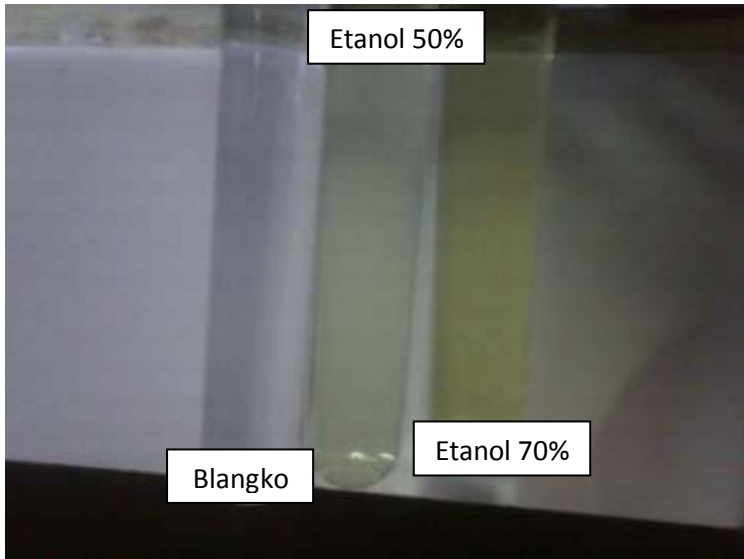
| | | | | | | | |
|------------|---|---|--------|--------|---------|---------|---------|
| | 4 | 2 | 0,4320 | 0,3870 | 9.7520 | 8.7338 | 9.2429 |
| | 5 | 2 | 0,4911 | 0,4652 | 11.0893 | 10.5032 | 10.7962 |
| | 6 | 2 | 0,5614 | 0,5959 | 12.6799 | 13.4605 | 13.0702 |
| | 7 | 2 | 0,4629 | 0,4832 | 10.4512 | 10.9105 | 10.6808 |
| | 8 | 2 | 0,3972 | 0,3978 | 8.9646 | 8.9782 | 8.9714 |
| | 9 | 2 | 0,3350 | 0,3727 | 7.5572 | 8.4103 | 7.9837 |
| Etanol 98% | 3 | 2 | 0,4951 | 0,3856 | 6.0281 | 4.7416 | 5.3848 |
| | 4 | 2 | 0,5964 | 0,5508 | 7.2182 | 6.6825 | 6.9503 |
| | 5 | 2 | 0,7196 | 0,6613 | 8.6656 | 7.9807 | 8.3231 |
| | 6 | 2 | 0,7801 | 0,7601 | 9.3764 | 9.1414 | 9.2589 |
| | 7 | 2 | 0,6167 | 0,6516 | 7.4567 | 7.8667 | 7.6617 |
| | 8 | 2 | 0,5840 | 0,5379 | 7.0725 | 6.5309 | 6.8017 |
| | 9 | 2 | 0,5477 | 0,4130 | 6.6460 | 5.0635 | 5.8548 |

Prinsip penentuan kandungan flavonoid secara spektrofotometri ini adalah adanya kemampuan flavonoid untuk membentuk kompleks dengan AlCl_3 membentuk warna kuning sesuai dengan reaksi pada Gambar C.9 yang menunjukkan reaksi antara flavonoid dengan AlCl_3 . Semakin pekat warna kuning yang dihasilkan, semakin banyak pula flavonoid dalam ekstrak tersebut [59]. Warna yang terjadi pada studi ini disajikan pada Gambar C.10. Dari Gambar C.10 terlihat bahwa warna kuning larutan pada penggunaan pelarut etanol 70% lebih tua daripada pelarut etanol 50%. Hal ini mengindikasikan bahwa perolehan TFC dari penggunaan pelarut etanol 70% lebih besar daripada penggunaan pelarut 50%, sesuai dengan data yang disajikan pada tabel C.5.



Gambar C. 9Reaksi antara Flavonoid dengan AlCl_3 (Amic, 2003)

Reaksi pada Gambar C.9 juga didukung oleh perubahan warna dari hasil percobaan yang terjadi pada uji TFC yang ditunjukkan pada Gambar C.10 dengan menggunakan pelarut etanol 50% dan 70%.



Gambar C. 10 Perubahan Warna pada Uji TFC dengan Menggunakan Pelarut Etanol 50% dan 70%

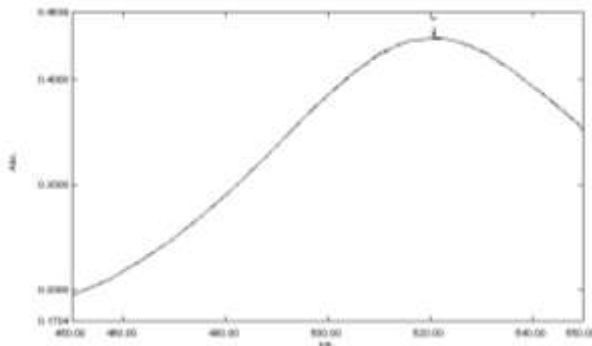
LAMPIRAN D (ANALISA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN)

Analisa aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode Ren dkk (2013) yang telah dimodifikasi.

D.1. Ekstrak Cair

D.1.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengukur absorbansi larutan DPPH antara 450-550 nm dan hasilnya diperoleh panjang gelombang maksimum 520,8 nm yang disajikan pada gambar D.1.



Gambar D. 1 Panjang Gelombang Maksimum DPPH Pelarut Etanol 70%

D.1.2 Prosedur Analisa Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH

1. 1 mL ekstrak cair diambil menggunakan pipet volum dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan etanol 70% sampai tanda batas.

2. 0,2 mL pengenceran ekstrak rambut jagung tersebut ditambahkan dengan 7,8 mL larutan DPPH 0,025 mg/mL dan didiamkan selama 50 menit pada temperatur ruang dengan keadaan gelap.
3. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 520,8 nm (A sampel)
4. Prosedur 1-2 diulangi dengan menggunakan metanol sebagai pengganti ekstrak rambut jagung (A kontrol) dan hasilnya disajikan pada tabel D.1.

Tabel D. 1 Hasil Pengukuran Analisa DPPH menggunakan Spektrofotometer untuk Ekstrak Cair

| Sampel | Absorabansi (A) | | Rata-rata |
|--|-----------------|--------|-----------|
| | 1 | 2 | |
| Kontrol Etanol (untuk ekstrak cair) | 0.5590 | 0.5620 | 0.5605 |
| Ekstrak 5 jam (cair) | 0.4180 | 0.4200 | 0.4190 |
| Ekstrak 6 jam (cair) | 0.4590 | 0.4580 | 0.4585 |

D.1.3 Perhitungan Radical Scavenging Activity

Contoh perhitungan diambil dari tabel D.1, data ekstrak 5 jam (cair).

Absorbansi sampel (A sampel) rata-rata = 0,4190 A

Absorbansi kontrol (A kontrol) rata-rata = 0,5605 A

Perhitungan % radical scavenging activity dengan menggunakan persamaan berikut

$$\text{Radical Scavenging Activity (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{samplel}}}{A_{\text{control}}}\right) \times 100\%$$

$$= \left(1 - \frac{0,4190}{0,5605}\right) \times 100\%$$

$$= 25,25 \%$$

Dimana A sampel = absorbansi ekstrak (A)

A kontrol = absorbansi pelarut sebagai pengganti ekstrak (A)

Data-data lainnya dihitung dengan cara yang sama dan hasilnya disajikan pada tabel D.2.

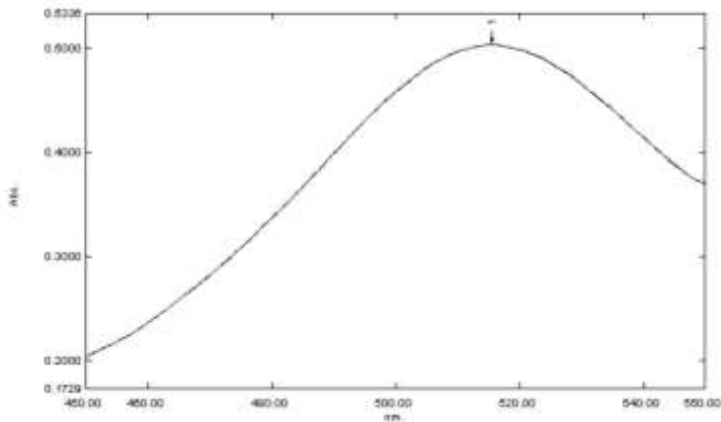
Tabel D. 2 Hasil Perhitungan Radical Scavenging Activity

| Sampel | Absorabansi (A) | | Rata-rata | Radical Scavenging Activity (%) |
|--|-----------------|--------|-----------|---------------------------------|
| | 1 | 2 | | |
| Kontrol Etanol (untuk ekstrak cair) | 0.5590 | 0.5620 | 0.5605 | |
| Ekstrak 5 jam (cair) | 0.4180 | 0.4200 | 0.4190 | 25.25 |
| Ekstrak 6 jam (cair) | 0.4590 | 0.4580 | 0.4585 | 18.20 |

D.2. Ekstrak Kering

D.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Untuk mendapatkan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengukur absorbansi larutan DPPH antara 450-550 nm dan hasilnya diperoleh panjang gelombang maksimum 515,5 nm yang disajikan pada gambar D.2.



Gambar D. 2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH pelarut Metanol

D.2.2 Prosedur Analisa Aktivitas Antioksidan Menggunakan DPPH

1. 0,2 mL ekstrak rambut jagung (40, 100 dan 200 mg/L) ditambahkan dengan 7,8 mL larutan DPPH 0,025 mg/mL dan didiamkan selama 50 menit pada temperatur ruang dengan keadaan gelap.
2. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 515,5 nm (A sampel) Prosedur 1-2 diulangi dengan menggunakan metanol sebagai pengganti ekstrak rambut jagung (A kontrol)
3. Untuk BHT, prosedur 1-3 diulangi dengan menggunakan BHT sebagai pengganti ekstrak rambut jagung dan hasilnya disajikan pada tabel D.3

Tabel D. 3 Hasil Pengukuran Analisa DPPH

| Sampel | Absorbansi | | Rata-Rata |
|---|------------|--------|-----------|
| | 1 | 2 | |
| Kontrol Metanol (untuk ekstrak kering) | 0.3860 | 0.3860 | 0.3860 |
| Ekstrak 5 jam Kering 40 ppm | 0.3810 | 0.3820 | 0.3815 |
| Ekstrak 5 jam Kering 100 ppm | 0.3640 | 0.3640 | 0.3640 |
| Ekstrak 5 jam Kering 200 ppm | 0.3010 | 0.2990 | 0.3000 |
| Kontrol Metanol (untuk BHT) | 0.3430 | 0.3512 | 0.3471 |
| BHT 40 ppm | 0.3109 | 0.3184 | 0.3147 |
| BHT 100 ppm | 0.2571 | 0.2650 | 0.2611 |
| BHT 200 ppm | 0.1708 | 0.1849 | 0.1779 |

D.2.3 Perhitungan Radical Scavenging Activity

Contoh perhitungan diambil dari tabel D.3, data ekstrak 5 jam kering.

Absorbansi sampel (A_{sampel}) rata-rata = 0,4190 A

Absorbansi kontrol (A_{kontrol}) rata-rata = 0,5605 A

Perhitungan % radical scavenging activity dengan menggunakan persamaan berikut

$$\begin{aligned}
 \text{Radical Scavenging Activity (\%)} &= \left(1 - \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}}\right) \times 100\% \\
 &= \left(1 - \frac{0,3815}{0,3860}\right) \times 100\% \\
 &= 1,17 \%
 \end{aligned}$$

Dimana A_{sampel} = absorbansi ekstrak (A)

A kontrol = absorbansi pelarut sebagai pengganti ekstrak (A)

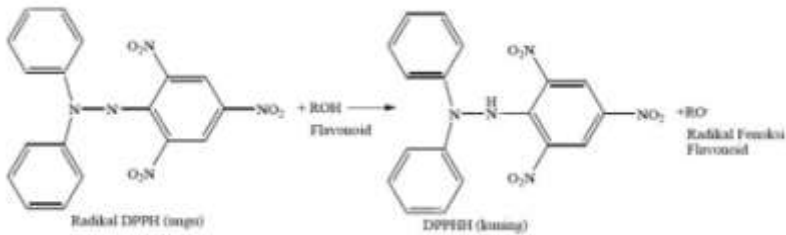
Data-data lainnya dihitung dengan cara yang sama dan hasilnya disajikan pada tabel D.4.

Tabel D. 4 Hasil Perhitungan Radical Scavenging Activity

| Sampel | Absorbansi (A) | | Rata-rata | Radical Scavenging Activity (%) |
|---|----------------|--------|-----------|---------------------------------|
| | 1 | 2 | | |
| Kontrol Metanol (untuk ekstrak kering) | 0.3860 | 0.3860 | 0.3860 | |
| Ekstrak 5 jam Kering 40 ppm | 0.3810 | 0.3820 | 0.3815 | 1.17 |
| Ekstrak 5 jam Kering 100 ppm | 0.3640 | 0.3640 | 0.3640 | 5.69 |
| Ekstrak 5 jam Kering 200 ppm | 0.3010 | 0.2990 | 0.3000 | 22.28 |
| Kontrol Metanol (untuk BHT) | 0.3430 | 0.3512 | 0.3471 | |
| BHT 40 ppm | 0.3109 | 0.3184 | 0.3147 | 9.35 |
| BHT 100 ppm | 0.2571 | 0.2650 | 0.2611 | 24.78 |
| BHT 200 ppm | 0.1708 | 0.1849 | 0.1779 | 48.76 |

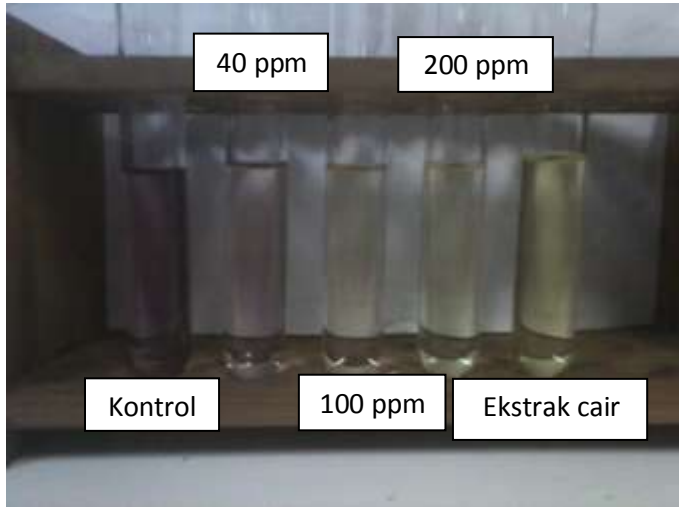
Prinsip penentuan aktivitas antioksidan ini adalah berkurangnya intensitas warna ungu yang ditimbulkan oleh DPPH menjadi warna kuning. Berkurangnya intensitas warna ungu tersebut disebabkan karena antioksidan dalam sampel memberikan atom hidrogennya ke molekul DPPH yang bertindak sebagai radikal bebas dan membentuk senyawa *1,1-difenil-2-*

pikrilhidrazin yang berwarna kuning. Reaksi tersebut dapat dilihat pada Gambar D.3 sebagai berikut.



Gambar D.3 Reaksi yang Terjadi antara Antioksidan dan DPPH

Semakin besar konsentrasi antioksidan dalam ekstrak, maka semakin berkurang intensitas warna ungu DPPH awal pada larutan sampai pada akhirnya DPPH tersebut habis dan larutan menjadi warna kuning. Berkurangnya warna ungu tersebut diukur secara kuantitatif melalui berkurangnya absorbansi pada larutan tersebut. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi warna ungu dari sisa DPPH yang tidak dihambat oleh antioksidan pada ekstrak. Semakin besar berkurangnya absorbansi larutan, maka semakin banyak DPPH yang dihambat oleh antioksidan pada ekstrak yang diuji (Wahyu, 2010).



Gambar D. 3 Perubahan Warna yang Terjadi pada Uji Aktivitas Antioksidan

Reaksi pada Gambar D.3 dapat dibuktikan oleh Gambar D.4 yang merupakan hasil perubahan warna yang terjadi pada uji aktivitas antioksidan menggunakan ekstrak kering. Semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin besar berkurangnya intensitas warna ungu dari pekat menjadi pudar, hingga akhirnya berubah menjadi warna kuning. Apabila masih ada sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan antioksidan, maka warna ungu dari DPPH menjadi warna cokelat karena warna cokelat tersebut merupakan warna campuran antara warna ungu DPPH dengan warna kuning senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin. Sedangkan larutan DPPH sudah habis bereaksi dengan antioksidan, maka warna ungunya akan menjadi kuning.

EKSTRAKSI SENYAWA FENOLIK DARI RAMBUT JAGUNG SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI: PENGARUH KONSENTRASI ETANOL DAN WAKTU MASERASI

**Filia Irawati H., Vincentia Kristiani, Nani Indraswati,
Wenny Irawaty ***

**Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas
Katolik Widya Mandala Surabaya**

Jalan Kalijudan 37, Surabaya 60114

Email: wenny.i.santosa@gmail.com

Abstrak

Indonesia kaya akan flora yang dapat digunakan sebagai obat herbal. Salah satunya adalah rambut jagung yang kurang dimanfaatkan oleh masyarakat dan biasanya menjadi limbah. Rambut jagung mengandung senyawa-senyawa antioksidan seperti fenolik, *tannins*, *quercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin*, *routine*, dan *luteolin*. Untuk mengetahui kandungan senyawa-senyawa tersebut, maka tujuan studi ini adalah untuk menentukan konsentrasi pelarut etanol yang dapat mengekstrak *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) tertinggi, serta mempelajari aktivitas antioksidan dari ekstrak rambut jagung tersebut. Rambut jagung diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan waktu ekstraksi 3, 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 jam. Hasil TPC tertinggi yang didapatkan sebesar 24,95 mg *galic acid equivalent* (GAE)/g rambut jagung kering menggunakan pelarut etanol 70% dengan waktu ekstraksi 5 jam, sedangkan TFC tertinggi yang didapatkan sebesar 17,12 mg *routine equivalent* (RE)/g rambut jagung kering menggunakan pelarut etanol 70% dengan waktu ekstraksi 6 jam. Ekstrak yang memiliki TPC dan TFC tertinggi diuji

aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Hasilnya menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi antioksidan, semakin besar pula aktivitas antioksidan tersebut dalam menetralkan radikal bebas DPPH.

Kata kunci: rambut jagung, maserasi, TPC, TFC, aktivitas antioksidan, fenolik, dan flavonoid.

Abstract

Indonesian flora that are rich of antioxidant compounds can be used as a herbal medicine. For example is corn silk that has not been utilized yet. Corn silk contains tannins, quercetin, kaempferol, myricetin, apigenin, routine, and luteolin. This study aims to determine the ethanol concentration that provides the highest Total Phenolic Content (TPC) and Total Flavonoid Content (TFC), as well as studies the antioxidant activity of the corn silk extract. Corn silk was extracted using maceration method with maceration time were 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9 hours. The results showed the highest TPC obtained was 24.95 mg galic acid equivalent (GAE)/g of dried corn silk using 70 % ethanol with 5 hours of extraction time, whereas the highest TFC obtained at 17.12 mg routines equivalent (RE)/g of dried corn silk using 70 % ethanol with 6 hours of extraction time. Extracts which had the highest TPC and TFC was tested its antioxidant activity using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that the greater concentration of antioxidants, the greater antioxidant activity in neutralizing free radicals, in this case DPPH.

Keywords: corn silk, maceration, TPC, TFC, antioxidant activity, phenolic, and flavonoid.

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi yang pesat membuat orang memiliki gaya hidup tidak sehat yang dapat mengakibatkan timbulnya berbagai penyakit. Hal tersebut disebabkan karena terjadinya perubahan pola hidup yang memfasilitasi terbentuknya radikal bebas yang menyerang sel-sel tubuh yang sehat (Aruoma dkk., 2012). Radikal bebas dapat diatasi dengan cara mengkonsumsi antioksidan yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel tubuh.

Berbagai bahan alami seperti sayur dan buah-buahan memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang bersifat antioksidan. Limbah pertanian seperti kulit, biji, ataupun bagian tumbuhan lainnya dilaporkan juga mempunyai kandungan fenolik yang cukup tinggi dibandingkan dengan bagian buah yang dapat dikonsumsi. Salah satu limbah tersebut adalah rambut jagung yang dilaporkan mengandung flavonoid seperti *quercetin*, *rutin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin* dan *luteolin* (Lukacinova et. al., 2008).

Kandungan fenolik dan flavonoid rambut jagung dapat diekstrak dengan berbagai

metode, salah satunya adalah metode maserasi. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh konsentrasi etanol sebagai pelarut dan waktu maserasi terhadap perolehan *Total Phenolic Content* (TPC) dan *Total Flavonoid Content* (TFC) dari ekstrak rambut jagung serta mempelajari aktivitas antioksidan dari ekstrak rambut jagung tersebut.

METODOLOGI

Bahan

Bahan baku rambut jagung diperoleh dari pasar Keputran Surabaya. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol teknis 98%, natrium karbonat 99% (UPT BPPTK LIPI Indonesia), aluminium klorida 99% (Ferak), *gallic acid* 97% (Sigma Aldrich), *rutin* 95% (Sigma Aldrich), reagen Follin-Ciocalteu 99% (Merck Darmstadt), DPPH (*1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) 95% (Sigma Aldrich), methanol 99,9% (Mallinckrodt Baker), dan aquades. Bahan-bahan tersebut diperoleh dari *supplier* di Surabaya dan langsung digunakan.

Persiapan Bahan Baku

Rambut jagung dikeringkan menggunakan *oven* dengan suhu 40°C sampai kadar air kurang dari 10%. Selanjutnya rambut jagung yang sudah kering dihancurkan dengan *grinder* dan diayak untuk mendapatkan ukuran serbuk +100/-120 mesh.

Ekstraksi

Serbuk rambut jagung dicampurkan dengan berbagai variasi konsentrasi etanol (0, 50, 70 dan 98 %) dan didiamkan selama waktu tertentu (3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9 jam). Rasio serbuk dan pelarut yang digunakan 1:20 (b/v). Ekstraksi dilakukan pada suhu ruang dan dalam keadaan gelap. Setelah proses ekstraksi berlangsung pada waktu tertentu, campuran disaring dengan filter vakum untuk memisahkan filtrat dengan ampas. Filtrat diuji *Total Phenolic Content* (TPC), dinyatakan dalam satuan mg *Gallic Acid Equivalent* (GAE)/g rambut jagung kering, dan *Total Flavonoid Content* (TFC), dinyatakan dalam satuan mg *Rutin Equivalent* (RE)/g rambut jagung kering.

TPC

Analisa TPC dilakukan menggunakan metode dari Waterhouse dengan modifikasi

(Waterhouse, 2005). 1 mL ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan 5 mL reagen *Follin-Ciocalteu*, lalu didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dalam keadaan gelap. Campuran tersebut ditambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 7,5 % (w/v) dan didiamkan selama 90 menit pada suhu ruang dan keadaan gelap. Larutan tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV mini-1240).

TFC

Analisa TFC dilakukan menggunakan metode (Liu, 2010). 0,5 mL ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan 4,5 mL metanol dan 5 mL AlCl_3 10% (b/v). Setelah homogen, larutan tersebut didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan dalam keadaan gelap. Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu Pharmaspec UV-1700).

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan DPPH dan ditentukan % penangkap radikal bebas (*radical scavenging activity*) (Ren dkk., 2013). 0,2 mL ekstrak cair ditambahkan 7,8 mL

DPPH dan didiamkan selama 50 menit pada suhu ruang dalam keadaan gelap. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520,8 nm. Untuk absorbansi kontrol, dilakukan langkah yang sama tetapi digunakan etanol 70% sebagai pengganti ekstrak cair. Langkah-langkah tersebut juga digunakan untuk ekstrak kering yang dilarutkan dalam metanol. Kontrol digunakan 0,2 mL metanol untuk pengganti ekstrak. Persen penangkap radikal bebas dihitung dengan persamaan (1):

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100\% \quad (1)$$

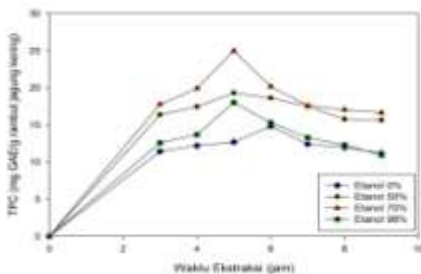
dimana A_s = Absorbansi Sampel

A_c = Absorbansi Kontrol

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Phenolic Content (TPC)

Pengaruh waktu maserasi dan konsentrasi etanol terhadap perolehan fenolik, dinyatakan dalam TPC, disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Perolehan TPC

Dari Gambar 1 terlihat bahwa waktu ekstraksi dan konsentrasi pelarut sangat berpengaruh terhadap TPC. Seiring dengan bertambahnya waktu ekstraksi, senyawa fenolik yang dapat terekstrak semakin besar. Hal tersebut disebabkan karena semakin lama waktu ekstraksi, semakin lama pula waktu kontak antara rambut jagung dan pelarutnya sehingga semakin banyak fenolik yang terlarut dalam pelarutnya. Namun sesudah waktu ekstraksi 5 jam dan 6 jam, konsentrasi fenolik mulai menurun. Hal ini dapat disebabkan terjadinya degradasi senyawa fenolik karena waktu kontak ekstrak dengan oksigen dan cahaya yang terlalu lama. Waktu ekstraksi yang relatif lama

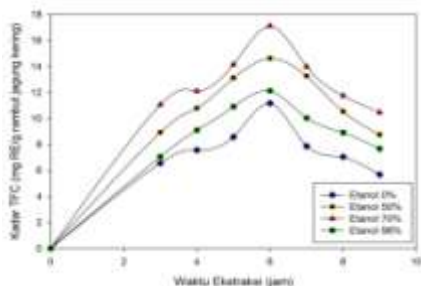
dapat menyebabkan terjadi dekomposisi bahan aktif dalam campuran bahan atau sampel tersebut (Chen dkk, 2001).

Konsentrasi etanol terlihat berpengaruh terhadap TPC yang diperoleh. Kadar etanol 70% memberikan perolehan TPC yang paling tinggi yaitu 19 mg GAE/g rambut jagung kering. Pelarut etanol 0%, 50%, dan 98% memberikan perolehan TPC masing-masing sebesar 11; 15; dan 14 mg GAE/g rambut jagung kering. Pelarut etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar. Konsentrasi etanol yang bervariasi menyebabkan tingkat kepolaran yang bervariasi. Etanol mempunyai gugus yang bersifat polar dan non-polar. Gugus hidroksil (-OH) merupakan gugus yang sangat polar karena tingkat keelektronegatifan yang tinggi dari oksigen. Di sisi lain, etanol juga memiliki karbon non-polar (C₂H₅-) sehingga dapat melarutkan senyawa non-polar (Hart, 2003). Dengan larutan etanol 70% senyawa fenolik yang terekstrak lebih banyak dibandingkan etanol 98%. Namun penambahan air sampai konsentrasi etanol menjadi 50%, senyawa fenolik yang terekstrak lebih sedikit dibandingkan 70%, tetapi masih lebih tinggi dibandingkan senyawa fenolik yang terkstrak menggunakan

etanol 98%. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa yang ada di dalam rambut jagung lebih banyak senyawa non-polar dibandingkan senyawa polarnya. Hal tersebut juga dibuktikan dari perolehan fenolik yang menggunakan pelarut air murni saja dan hasilnya menunjukkan jumlah fenolik yang terekstrak paling rendah diantara yang pelarut yang lain.

Total Flavonoid Content (TFC)

Pengaruh konsentrasi etanol dan waktu maserasi terhadap perolehan flavonoid, dinyatakan dalam TFC, disajikan pada Gambar 2.



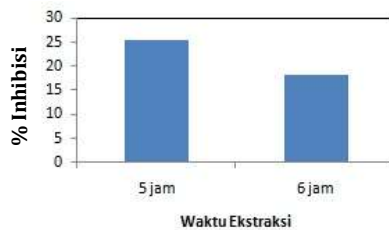
Gambar 2. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Perolehan TFC

Dari Gambar 2 terlihat sama halnya seperti TPC bahwa waktu ekstraksi dan konsentrasi pelarut sangat berpengaruh terhadap perolehan TFC. Hasil TFC tertinggi juga didapatkan dari pelarut etanol 70% sebesar 13 mg RE/g rambut jagung kering. TFC dengan menggunakan konsentrasi etanol 0%, 50%, dan 98% yaitu sebesar 8,53; 11,16 dan 9,26 mg RE/g rambut jagung kering. Waktu optimum untuk mendapatkan TFC tertinggi adalah 6 jam. Setelah waktu 6 jam, TFC yang didapatkan lebih rendah karena kemungkinan senyawa flavonoid dalam rambut jagung tersebut terdegradasi oleh cahaya dan teroksidasi oleh oksigen disebabkan karena lamanya waktu kontak dengan udara dan cahaya.

Aktivitas Antioksidan

Analisa aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH yang menggunakan ekstrak cair dan kering. Ekstrak cair yang dianalisa adalah ekstrak yang menunjukkan hasil tertinggi dari uji TPC dan TFC yaitu ekstrak yang menggunakan pelarut etanol 70% pada waktu ekstraksi 5 jam (TPC tertinggi) dan 6 jam (TFC tertinggi). Hasilnya disajikan pada Gambar 3. Sedangkan ekstrak

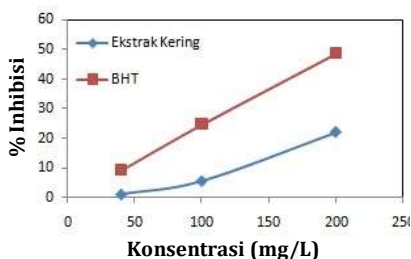
kering yang digunakan adalah ekstrak cair yang menunjukkan hasil aktivitas antioksidan yang tertinggi dan kemudian dikeringkan untuk melihat pengaruh konsentrasi ekstrak kering terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Hasil tersebut disajikan dalam Gambar 4. Besarnya aktivitas antioksidan tersebut dinyatakan dalam persen inhibisi.



Gambar 3. % Inhibisi Ekstrak Cair dengan TPC dan TFC tertinggi

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak cair 5 jam lebih tinggi dibandingkan ekstrak cair 6 jam. Hal ini dikarenakan TPC tertinggi terdapat pada ekstrak 5 jam sehingga senyawa fenolik tersebut dapat menangkal radikal bebas lebih banyak daripada senyawa fenolik dalam ekstrak 6 jam. Oleh karena itu semakin besar konsentrasi senyawa fenolik atau

antioksidan dalam ekstrak rambut jagung tersebut, maka semakin besar pula aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH. Oleh karena itu ekstrak rambut jagung dengan waktu ekstraksi 5 jam dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* dan *vacuum oven* untuk melihat pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap penghambatan radikal bebas DPPH. Hasil tersebut disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kering terhadap Persentase Inhibition

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa konsentrasi ekstrak kering sangat mempengaruhi besarnya aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH. Seiring bertambah besarnya konsentrasi ekstrak kering tersebut, semakin besar aktivitas antioksidan yang

dihasilkan. Hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin banyak pula antioksidan yang dikandung dalam ekstrak tersebut sehingga dapat menghambat radikal bebas lebih banyak.

Demikian juga sama halnya dengan ekstrak kering, semakin besar konsentrasi BHT (antioksidan sintetis) yang digunakan akan meningkatkan persen inhibisi tersebut. Akan tetapi pada Gambar 4 terlihat bahwa persen inhibisi yang dihasilkan oleh BHT lebih besar dibandingkan persen inhibisi yang dihasilkan oleh ekstrak kering. Namun dari Gambar 3 dan 4 terlihat bahwa persen inhibisi ekstrak kering lebih rendah daripada ekstrak cair. Hal ini mungkin disebabkan karena cara pengeringan yang dilakukan pada studi ini untuk mendapatkan ekstrak kering dapat menurunkan kandungan antioksidan sampai 87,6% (Zainol dkk, 2009).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat ditarik beberapa kesimpulan, antara lain (1) bahwa konsentrasi etanol mempengaruhi banyaknya perolehan fenolik yang didapatkan. Etanol 70% memberikan perolehan fenolik dan flavonoid yang paling tinggi

yaitu sebesar 24,95 mg GAE dan 17,12 mg RE per gram rambut jagung kering.

(2) Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin besar perolehan fenolik dan flavonoid yang didapatkan. Akan tetapi waktu ekstraksi yang terlalu lama dapat menurunkan perolehan fenolik dan flavonoid.

(3) Aktivitas antioksidan, dinyatakan dalam % inhibisi, semakin meningkat seiring bertambahnya konsentrasi antioksidan dalam sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Arouma, D.I., B. Landes, D.R-Baboolall, E. Bourdon, V.N.-Bhujun, K.H. Wagner, T. Baharun, 20, Functional benefit of citrus fruits in the management of diabetes, *Preventive Medicine*,
- Chen, Z.Y, Q.Y. Zhu, D. Tsang, Y. Huang, 2001, Degradation of green tea catechins in tea drinks. *Journal of Agricultural & food chemistry*, 49, p. 477-482.
- Hart, H., L.E. Craine, and D.J. Hart, *Organic Chemistry*. 2003, Jakarta: Erlangga, p. 65-82.
- Liu Wei, Yanying Yu, Ruzhe Yang, Chunpeng Wan, Binbin Xu, Shuwen Cao, 2010, *Optimization of Total Flavonoid Compound Extraction from Gynura Medica Leaf using Response Surface Methodology and Chemical Composition Analysis*. *Mol Sci*, 11(11), p. 4750-4763.
- Lukacinova, A., J. Mojžiš, R. Beňáčka, O. Rácz and F. Ništiar, 2008, *Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Mellitus in Rats*. *ACTA VET. BRNO*. 77: p. 175-182.
- Ren S., Qing-Qing Qiao and Xiao-Lin Ding, Antioxidative Activity of Five Flavones Glycosides from Corn Silk (*Stigma maydis*), *Czech J. Food Sci*. 2013, 31(2). 148-155
- Waterhouse A., *Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine*. 2005, <http://waterhouse.ucdavis.edu/faqs/foolin-ciocalteu-micro-method-for-total-phenol-in-wine> . [22 Januari 2014].
- Zainol M, Abdul-Hamid A, Abu Bakar, dan Pak Dek, *Effect of different drying methods on the degradation of*

*selected flavonoids in
Centella asiatica.* Food
Science, 2009. 16: p. 531-
537.

